

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2002-517269

(P2002-517269A)

(43) 公表日 平成14年6月18日 (2002.6.18)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

A 6 1 B 3/14

識別記号

3/12

F I

A 6 1 B 3/14

3/12

テーマコード (参考)

Z

M

E

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 30 頁)

(21) 出願番号 特願2000-552962(P2000-552962)  
(86) (22) 出願日 平成11年6月7日(1999.6.7)  
(85) 翻訳文提出日 平成12年12月8日(2000.12.8)  
(86) 国際出願番号 PCT/IL99/00303  
(87) 国際公開番号 WO99/63882  
(87) 国際公開日 平成11年12月16日(1999.12.16)  
(31) 優先権主張番号 124814  
(32) 優先日 平成10年6月8日(1998.6.8)  
(33) 優先権主張国 イスラエル (IL)

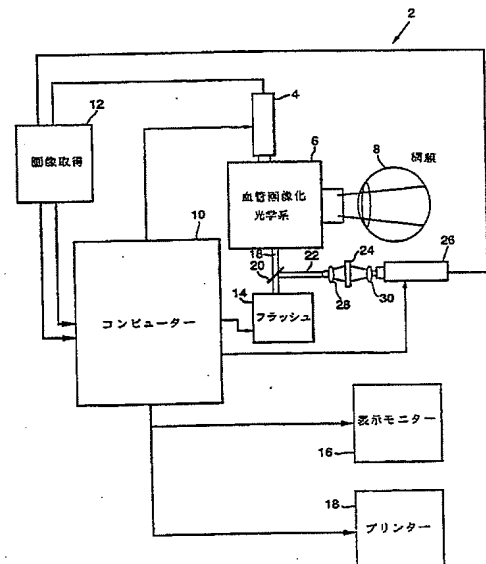
(71) 出願人 グリンヴァルド, アミラム  
イスラエル リホヴォット 76100 ミオ  
ノット ウィックス 1 ワイズマン イ  
ンスティテュート オブ サイエンス  
(72) 発明者 グリンヴァルド, アミラム  
イスラエル リホヴォット 76100 ミオ  
ノット ウィックス 1 ワイズマン イ  
ンスティテュート オブ サイエンス  
(72) 発明者 ネルソン, ダリン  
イスラエル リホヴォット 76285 メル  
ツァー ストリート 1/15  
(74) 代理人 弁理士 遠山 勉 (外4名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血管中の個々の赤血球の動きの画像化および分析

(57) 【要約】

本発明は、血管中の個々の赤血球の動きを直接画像化し、分析するためのシステムであって、少なくとも2つのフレームを製作するための少なくとも1つの同一赤血球の少なくとも1対の画像であって、各々は予め設定された時間でのフレームの各々における赤血球の位置のアナログ又はデジタル画像を表す画像を、予め設定された時間間隔内に取得するための画像化手段 (4、26) と、機械読取り可能な形式でアナログ又はデジタル画像を収集および保存するための画像取得手段 (12) と、そして少なくとも2つのフレームを処理するための、ならびに血管中の赤血球の動きを分析するための画像化手段および画像取得手段の操作を制御するためのコンピューター (10) とを含むシステムを提供する。血管中の個々の赤血球の移動を直接画像化し、分析するための方法も又提供する。



**【特許請求の範囲】**

**【請求項1】** 血管中の個々の赤血球の動きを直接画像化し、分析するためのシステムであって、

少なくとも2つのフレームを製作するための少なくとも1つの同一赤血球の少なくとも1対の画像であって、各々は予め設定された時間での前記フレームの各々における前記赤血球の位置のアナログ又はデジタル画像を表す画像を、予め設定された時間間隔内に取得するための画像化手段と、

機械読取り可能な形式でアナログ又はデジタル画像を収集および保存するための画像取得手段と、及び

前記少なくとも2つのフレームを処理するための、及び前記血管中の前記赤血球の動きを分析するための前記画像化手段および前記画像取得手段の操作を制御するためのコンピューターとを含むシステム。

**【請求項2】** 前記画像化手段は、網膜画像化光学系を含む請求項1記載のシステム。

**【請求項3】** 前記画像化手段は、CCDカメラを含む請求項1記載のシステム。

**【請求項4】** 前記赤血球をそれらが画像化される時に照明するためのコンピューター制御フラッシュをさらに含む請求項1記載のシステム。

**【請求項5】** 前記コンピューター制御フラッシュは、前記CCDカメラと一緒に操作する前記網膜画像化光学系により画像化され且つ検出される網膜赤血球の動作に対して十分強い光である2つのほぼ同一のフラッシュを伝達するための手段であって、5～100ミリ秒の時間間隔内で光の前記フラッシュの両方をさらに伝達し得る手段を含む前記請求項のいずれかに記載のシステム。

**【請求項6】** 逐次画像化中の赤血球の照明の変動を検出するための光学集成装置をさらに含む請求項1記載のシステム。

**【請求項7】** 取得画像および処理画像を表示するため、及び血管中の前記赤血球の動きの相互作用分析のために前記コンピューターに接続されるモニターをさらに含む請求項1記載のシステム。

【請求項8】 取得および処理画像をプリントするためのプリンターをさらに含む請求項1記載のシステム。

【請求項9】 血管中の個々の赤血球の動きを直接画像化し、分析するための方法であって、

少なくとも2つのフレームを製作するための少なくとも1つの同一赤血球の少なくとも1対の画像であって、各々は予め設定された時間での前記フレームの各々における前記赤血球の位置のアナログ又はデジタル画像を表す画像を、予め設定された時間間隔内に取得することと、

機械読取り可能な形式でアナログ又はデジタル画像を収集および保存して、前記画像をコンピューターに適用して処理を促進することと、

前記少なくとも2つのフレームに関して画像差分析を実施して、前記赤血球の動きから生じる動作信号を確定することと、そして

前記血管中の前記赤血球の動きの定量的測定値を出すこととを含む方法。

【請求項10】 前記時間間隔は、5～100ミリ秒である請求項9記載の方法。

【請求項11】 複数のフレームを一緒にして平均してバックグラウンドブランクを構築し、そして前記少なくとも2つのフレームの各々から前記バックグラウンドブランクを差し引くことにより前記画像差分析が実施される請求項9記載の方法。

【請求項12】 前記赤血球を保有する血管の動きを補正するための前記画像各々の全体的アライメントの予備ステップをさらに含む請求項9記載の方法。

【請求項13】 前記フレーム間の照明小変動を補正するための前記フレームの画像明度の標準化の予備ステップをさらに含む請求項9記載の方法。

【請求項14】 前記フレームの取得時に前記血管を照明することをさらに含む請求項9記載の方法。

【請求項15】 前記画像および前記画像差分析から生じる動作信号により製作される画像を表示して、それらの相互作用分析を可能にするステップをさらに含む請求項9記載の方法。

**【発明の詳細な説明】****【0001】****[技術分野]**

本発明は、血管中の個々の赤血球の動きを画像化し、分析するためのシステムおよび方法に関する。本発明のシステムおよび方法は、網膜中の赤血球の動き又は視神経の頭部を画像化しならびに分析して、血流の測定を容易にするのに特に有用である。

**【0002】****[発明の背景]**

網膜血管関連疾患は、世界的に、盲目の主因の1つである。これらの疾患の多くは、進行性であり且つ治療可能である。したがって、それらの早期検出は、非常に望ましい。診断は、しばしば、網膜血流に伴う問題の結果として網膜に生じ得る多数の明白な構造的変化に基づいて成される。これらの例としては、新血管形成（先在血管を通る流れの低減を埋め合わせようとする場合の新規血管の増殖）、綿一羊毛パッチ（神経線維軸索原形質輸送ができない領域）、ならびに結局のところの網膜神経線維の変性が挙げられる。一度観察されると、これらのおよびその他の現象を用いて網膜血管性疾患が診断され、そしてさらなる変性を軽減するための治療が開始され得る。しかし、このような問題を早期に、可能であれば、不可逆的損傷が起こる前に検出することが望ましい。

**【0003】**

前記の理由のために、網膜血流の速度、すなわちその後のより重篤な問題が起こる前の低減を測定することによる網膜血管問題の診断方法を開発することに、注意が集められてきた。迅速、定量的且つできるだけ非侵襲性であることが、このような方法にとっては望ましい。例えばフィルム写真フルオレセインおよびインドシアニンググリーン（ICG）血管造影は、網膜血流を査定するために一般的に用いられる技法である。しかしながら、蛍光血管造影は、相対的に長い手順（例えば1時間以上）を要し且つ定量的でなく、このことが患者の試験結果を容易に比較し得るデータベースの収集を妨げる。フルオレセインおよびICG血管造影は、不快な、危険でさえある副作用を有し得る。したがって疾患のその他の

徴候が明らかに示される場合にのみ投与され得る手法である血流中への蛍光化合物の大きな巨丸剤の注入を要する。さらに、1回の注入では片眼のみが注意深く追跡検査され得る。この技法の改善は、米国特許第5,394,199号および第5,437,274号に記載されているように血流結果の定量化を改善したが、しかし侵襲性という欠点はそのままであり、米国特許第5,394,199号の場合のように、依然として片眼のみの限定的観察が成される。

#### 【0004】

もう一つの、さらに古い網膜血流測定方法は、米国特許第4,142,796号に開示されており、レーザードップラーシフト効果を用いて単一点での流量を検出する。この技法は、標的（すなわち血球）の動きのために、コヒーレント光源から検出器に反射し戻される光の周波数の変化によっている。しかしながら、この方法は、血流の全体的パターンを明示せず、したがって限定された情報を提供するだけである。米国特許第5,640,963号および第5,620,000号に開示されたこの方法のさらに最近の改善は、レーザー光線を動かして、つまり関心のある領域を走査して、二次元画像を作製するための手段を提供する。しかしながら、この技法の使用は、部分的には、血流量の間接的測定を用い、測定値の不確かな変動性を伴うという理由のために、眼科学者の間では広範には容認されていない。

#### 【0005】

米国特許第4,950,070号および第5,090,799号に記載されたレーザースペックルフローグラフィーも、網膜血流を測定するための手段として示唆された。この技法は、小領域におけるレーザー光線からの反射光の変動を分析して、血液がその領域を通して流れる速度を確定する。走査式レーザードップラー画像化の場合と同様に、この技法は間接法を用いて、得られた信号から流れの速度を推定する。

#### 【0006】

前記の技法はともに、レーザー、網膜表面でレーザーを走査するための装置および基礎眼底カメラよりすぐれた有意数の付加的検出光学系の使用を要する。

#### 【0007】

別の群のドップラー効果ベースのシステムは米国特許第5,701,898号に記載されており、流量を確定するためには、光周波数というよりも、超音波周波数のシフトによっている。しかしながら、結果の解釈が難しいと考えている眼科医もあり、いくつかの他の技法と同様に十分に分離された画像を生じない。

#### 【0008】

前記の技法のすべての共通の欠点は、それらが何れも多く多くの部位の個々の赤血球の可視化を可能にしないという点である。網膜流は異なる血管間で異質であるため、一定期間にわたって重要な診断情報を逸するおそれがある。

#### 【0009】

網膜血流の測定により直接的方法の開発に際しての本分野の関心、ならびにその重要性はさらに、Investigative Ophthalmology and Visual Science, Vol. 39, pp.407-415 (February 1998) に発表された技法により説明される。この技法は、局所血流および個々の赤血球の直接画像化の手段の成功例であるが、それでも、それは非常に侵襲的で、眼の外科的切開とその後の眼内内視鏡の導入を要する。したがって、その最終的な臨床的有用性は非常に制限される。

#### 【0010】

このように、非侵襲的に、定量的に且つ迅速に血管中の血流の速度を測定し得る、そして患者に常用するための医療従事者の間の一般的容認を見出すのに十分に、解釈が分かり易い診断装置が必要とされている。

#### 【0011】

##### [発明の要約]

血管中の血流量を直接且つ非侵襲的に測定するためのシステムおよび方法を提供することは、本発明の広範な目的である。

#### 【0012】

血流中の個々の赤血球の動作を検出することにより、血管中の血流量を直接的且つ非侵襲的に測定するための方法を提供することは、本発明のさらなる目的である。

#### 【0013】

本発明のさらに別の目的は、血流中の個々の赤血球の画像反射率の変化を検出

し、そして流れの速度を確定することにより血流量を直接的、非侵襲的に測定するための方法を提供することである。

#### 【0014】

本発明によれば、血管中の個々の赤血球の動きを直接画像化し、分析するためのシステムであって、少なくとも2つのフレームを製作するための少なくとも1つの同一赤血球の少なくとも1対の画像であって、各々は予め設定された時間での前記のフレームの各々における前記の赤血球の位置のアナログ又はデジタル画像を表す画像を、予め設定された時間間隔内に取得するための画像化手段と、機械読取り可能な形式で前記アナログ又はデジタル画像を収集および保存するためのフレーム取得手段と、及び前記の少なくとも2つのフレームを処理するための、及び血管中の前記の赤血球の動きを分析するための前記画像化手段および前記フレーム取得手段の操作を制御するためのコンピューターとを含むシステムが提供される。

#### 【0015】

本発明はさらに、血管中の個々の赤血球の動きを直接画像化し、分析するための方法であって、少なくとも2つのフレームを製作するための少なくとも1つの同一赤血球の少なくとも1対の画像であって、各々は予め設定された時間での前記のフレームの各々における前記の赤血球の位置のアナログ又はデジタル画像を表す画像を、予め設定された時間間隔内に取得することと、機械読取り可能な形式で前記のアナログ又はデジタル画像を収集および保存して、前記の画像をコンピューターに適用して処理を促進することと、前記の少なくとも2つのフレームに関して画像差分分析を実施して、前記の赤血球の動きから生じる動作信号を確定し、そして前記の血管中の赤血球の動きの定量的測定値を出すこととを含む方法を提供する。

#### 【0016】

本発明を、より十分に理解され得るよう、ある好ましい実施態様とともに、下記の図面を参照しながらここに説明する。

#### 【0017】

特定の図面を詳細に参照すると、示された特定のものは、実例として、そして

本発明の好ましい実施態様の説明のためのものであって、最も有用であると考えられ、且つ本発明の原理および概念的局面の容易に理解される説明を提供する理由で示される、ということが力説される。これに関しては、本発明の基本的理解に必要である以上に詳しい本発明の構造的詳細を示すことはせず、図面を用いて成される説明は、如何に本発明のいくつかの形態が実際に具体化され得るかを当業者に明らかにする。

### 【0018】

#### [好ましい実施態様の詳細な説明]

第1図では、血管中の血流量を非侵襲的に測定するためのシステムの好ましい実施態様を説明する。説明の目的のためにのみ、本明細書は、実際例として、主に、眼の網膜で実施されるこのような測定に関する。システム2は、良質の（デジタル化された場合に、少なくとも10ビットの使用可能分解能を提供する）画像化手段4、例えば血管画像化光学的集成装置6と組合せたCCDカメラ、例えば説明例の網膜8中の血管において測定が実施される血管を検査する眼底カメラ又は検眼鏡を含む。画像化データは、画像取得インターフェース12、例えばデジタルフレームグラッバーを通してコンピューター10に適用される。コンピューター10はフラッシュ14による手段の画像取得および照明タイミングを制御し、記憶容量も有する。自動画像分析の結果を見る、且つ相互画像分析を可能にするための表示モニター16、および分析結果のハードコピー出力のためのプリンター18が任意に提供される。

### 【0019】

理解されるように、精密制御方式で画像化血管を照明することが重要である。分析すべき血管の各々の画像化領域に関しては、いくつかの画像化試験を実施する。各試験に関しては、網膜血管系の2つの高分解能、高ビット深画像が、数msec内に得られる。画像間間隔は、5～200 msec、一般的には5～100 msec内である。間隔は、大直径および小直径毛細血管、細静脈および細動脈からの低速対高速動作の抽出を補助するために変えられる。明確な画像を得るために、数msec又はそれより短い光の短時間フラッシュを用いる必要がある。さらに、光のフラッシュは、動作信号の抽出を可能にするために、強さ



がほぼ同一でなければならない。

#### 【0020】

本発明の重要な特徴は、画像化中の眼の照明のパラメーターの精密制御である。いくつかの画像化試験が、各被験者に対して実行される。各試験に関しては、網膜血管系の2つの高分解能、高ビット深画像は、互いに5～200 msecで得られる（間隔は、大直径および小直径毛細血管、細静脈および細動脈からの低速対高速動作の抽出を補助するために変えられる。下記参照）。明確な画像を得るためには、光の短時間フラッシュ（数ミリ秒又はそれ未満）を用いることが有益である。さらに、光のフラッシュは、動作信号の抽出を可能にするために、強さがほぼ同一でなければならない。照明は、この範囲で最も強力に吸光する赤血球と、対応して画像化される相対的に反射性の網膜との間のコントラストを改良するために、主として青色光（400～450 nm）および／又は緑色光（530～580 nm）で構成されるのが有益である。このことにより、網膜の全体的な照明における適応が可能となる。

#### 【0021】

前記の考察により、高安定化フラッシュ装置14が、画像化光学集成装置6内に物理的に統合されるか又は光学ファイバーリード18を介して取り付けられる照明光源とともに、システム中に組み入れられる。このフラッシュ装置は、従来の眼画像化装置に用いられた光源では満たさない本発明の特別な照明タイミングおよび強度要求を満たすよう配置された外部制御電源により動力供給される高性能キセノンフラッシュランプで構成されるのが有益である。フラッシュのタイミングは、コンピューター10の画像取得ソフトウェアにより制御される。

#### 【0022】

網膜上の入射光は、バンドパスフィルター（例えば、400～450 nm又は530～580 nm）を通して、前記のように、コントラストを増大する。フラッシュ照明は眼底撮影に長きに亘って用いられてきたが、大いに強調されるのは、本発明の重要な特徴である短（5～200 msec）フラッシュ間間隔およびフラッシュ間安定性の両方である。

#### 【0023】

安定化照明源を注意して用いる場合でも、各々のフラッシュでは再現されない照明パターンの空間的異質性のために、画像に不規則が生じ得る。付加的画像情報なしでは、この種の照明不規則は精密には補償され得ない。本発明は随意に、この情報を得るための手段を含む。

#### 【0024】

照明経路における別のビームスプリット要素、例えば特に部分反射鏡20の使用により、網膜を照明するために用いられる光線の一分画は経路22に沿って進路を変えられて、網膜8と同一画像面に置かれる検量標的24にぶつけられる。検量標的は集束光学系28、30を有するビデオカメラのような二番目の画像化手段26により後ろから画像化される磨りガラスのような平坦、白色半透明表面であり得る。磨りガラス標的は、同一量の照明に関してより吸光性である網膜より明るいために、ビームスプリッター素子20は、全体的照明の小分画のみを進路を変える必要がある。さらに、良好なスペクトル安定性を有する光源に関しては、バンドパスフィルタリングは検量ビームに適用される必要はなく（網膜照明光線に対するように）、進路変更に必要な全体的光の分画をさらに低減する必要はない。

#### 【0025】

検量画像化手段24により観察される画像のフラッシューフラッシュ間の変動は記録され、その情報は、照明強度の全体的および空間的な局在化不規則性の両方に関する補正因子を提供するために用いられる。検量標的から網膜画像化カメラへの背面反射は、それらがビームスプリッターの分別反射により大きく弱められるために、且つそれらが網膜の反射光と同じ補正操作を施されるために、画像取得を妨げない。

#### 【0026】

検量画像化手段24は相対的に安価であり得る、ということに留意すべきである。照明パターンの空間的異質性は鮮明な境界を欠くので、それは網膜画像化手段4の微細画像化分解能を有する必要はない。

#### 【0027】

血管画像化集成装置6の光学系は種々の方法で具体化され得る。前記のように

、それは、網膜を見るための眼底カメラにより構成され得る。検眼鏡は網膜を観察するための代替的手段を提供し得る。血管画像化光学系は、被覆する頭蓋および硬膜が除去された脳の表面の血管を画像化する場合、標準カメラマクロレンズにより具体化され得る。さらに一般的には、内視鏡は、身体内に含入される血管床への視覚的アクセスを得るための明白な手段を提供する。したがって、血流内の個々の赤血球の動作は、画像反射率の追跡可能小変化として検出され得るし、この変化は、直接分析されて、流量に関する定量的および定性的の両方の情報を生じ得る。

#### 【0028】

本発明の画像取得および分析の方法を、第2～6図を参照しながらここで説明する。理解を助けるために、先ず、第2図を参照すると、これは、分析される単一移動中赤血球を含有する假定画像対（パネルAおよびB）を図解する。この例では、2つの小円（移動中の赤血球を表す）が、上2つの画像の中心のわずかに下および左に作られ得る。実像対では、血球の単一フレーム画像は人の眼に全く見えない。それらは、ここでは説明のために誇張されている。

#### 【0029】

AからBを差し引くことにより、又はAをBで割ることによって、結果を再概算して（例えば100の因数を掛ける）、2つの画像間の差が特定の明示され、強調される。差には、小斑点で表されるノイズが含まれるが、しかし血球の動きによる反射率の変化も含まれる。血球の動きは、パネルCにおける暗パッチ／明パッチ対として示される。パッチ対が暗い場合、暗色血球はその初期（パネルA）位置から動いたのであり、画像が明るい場合には、それは新しい（パネルB）位置に移動したのである。2つの位置間の重複領域は、反射率の差がその点では測定されないので、無信号灰色として符号化されたままである。

#### 【0030】

明らかに、画像間差を流量を反映する数に変換するには、動作分析の自動化方法が望ましい。この分析を実行するために用いられる方策の概要を、血管中の赤血球の一団を示す第3図を参照しながら、以下に説明する。パネルDでは、矢印で示した即時方向に血管BSを通過して移動する赤血球の一団が認められる。明ら

かに、単一赤血球も示され得る。一団は、方法の普遍性を説明するために示しただけである。パネルEは、数ミリ秒後のこれらの血球の位置を示す。十分に短い時間間隔では、これらの血球の相対的配置および回転は、それらの直接の比較を可能にするのに十分に、画像間で類似する。柔軟である実際の赤血球は、血管を通過する間に、その形状の変換も受け得る。

#### 【0031】

パネルDのフレーム（箱形領域）は、一番目の画像の任意サブ領域を表し、その多くのうちの1つが自動的に検査される。パネルEのフレームは、異なる位置にあるが、しかしそれを含有する全体的画像のその分画は、パネルDのフレームと最も密接に適合するものである。視覚的に、類似性は検出が容易である。下記のような最良適合を選ぶためにいくつかの候補領域を検査する自動化理論大系を用いて、同じ種類の適合化作業が実行される。

#### 【0032】

互いに関係した2つのフレームの置換（パネルEの2組のカーソル線を比較する）は、パネルDのフレームの中心の領域の血球の動作の局所的方向の初期概算を示す。この方法は小サブ領域間の比較のみによっているために、それは画像全体を移動する血球群の全体的形状によらず、それらが血管を通して流れる場合のそれらの相対的位置における瞬間－瞬間の類似性にのみよっている。

#### 【0033】

ここで第4図を参照すると、診断プロセスの画像取得段階中には、40においてオペレーターにより確定されるように、異なる画像間間隔の多数の画像対が得られ、保存され得る（ステップ32～38）、と見られる。異なる流量、例えば毛細血管対細動脈又は正常患者対無酸素性患者は、異なる画像間間隔を用いて最良に検出される。したがって、一連の間隔は、オペレーターの予測および画像化される血管の種類又は、患者における以前の知見に基づいて選択される。間隔の予め設定されたデフォルト範囲も、もちろん用い得る。

#### 【0034】

2つの好ましい種類の分析方法が利用可能である。一方の方法は全自動で、初期パラメーターがオペレーターにより設定されれば、取得画像対の1組は血流量

の単一擬似彩色画像に変換する。他方の方法は2つの表示を提供し、これらにより、オペレーターは、表示モニター16を用いて自動化分析を補充する動作信号を直接見ることができる。本発明の主目的は血流量の定量的報告を提供することであるが、取得画像の直接検査によりこれらの結果を定性的に確認する能力をオペレーターに提供することが、前記の自動的生成結果の妥当性における医者信頼を増加する。さらに、ヒトの脳の解釈力および視覚系は機械視力を大いに上回り、したがって生の動作信号の直接検査が可能であることにより、そうでなければ見過ごされる診断的洞察、例えば徐々に漏出している血管、凝集又はゆがんだ小体、局所および断続的異流等の診断的検出がなされ得る。

#### 【0035】

画像の分析は、相互作用および自動分析の両方に関して実質的に同一に始まる。非静止器官、例えば網膜の血管を画像化する場合、第5図に示したように2つの予備ステップがある。第一は、あらゆる眼の動きを補正するための、血管系のパターンを基礎にした42での画像の全体的アライメント、第二は、起こり得た照明小変動を補正するための44での画像の画像明度のヒストグラムベースの標準化である。バックグラウンドブランクは、多数のこれらの画像を一緒に平均することにより、46で構築される。このバックグラウンドブランクを次に、42で各々の個々の画像から差し引く。その結果生じる差画像は、主として血流中の赤血球の進行中の動きによるものである各画像のピクセルの低オーダービットの独特の特徴を強調する。差操作を実施するこのステップは、48での動作をさらに分析するための、そして所望により50での分析を保存するための各画像対で利用可能な動作信号を抽出するために重要である。第2図は、図の形態で反射信号を分析するこのステップの重要性を説明する。上2つのパネルAおよびBは、安定であるが複雑なバックグラウンドに対する2つの画像フレーム間で変化し得た単一赤血球の位置を示す。赤血球の丸い輪郭は2つの生画像でははっきりとは見えないが、下パネルCの差画像は、黒および白対のスポットを明示しており、これはそのときの2地点における赤血球の位置を表す。

#### 【0036】

明らかに、このような差画像化ステップは、特質が異なる代替的アルゴリズム

により履行され得る。実質的に同一種類の画像増強を生じる代替的一方法は、静止情報を削除し、画像間差を強調する効果も有する2つの画像を互いで割ることである。

#### 【0037】

これらの差画像を基礎にした自動動作分析は、第6図に示したように進行する。流れの方向および速度の確定は、ステップ52～68に従って、一般的には3×3ピクセルサイズであり、しかし所望によりオペレーターが変更可能な各ピクセルに順次中心がおかれる一番目の画像の小サブ領域を、二番目の画像の多数の同一サイズ化近サブ領域と比較することにより開始される。“近”とは、オペレーターにより固定される距離内、一般的には10～20ピクセルを意味する。血管の局所軸に沿っていない中心を有するか、又は、例えば閾値画像からの決められた、信頼できる分析には小さすぎる動作信号を有する領域は、処理速度を増すために任意に排除され得る。

#### 【0038】

検査した各対のサブ領域に関しては、先ずそれらの間の差を二乗し、次にサブ領域間の差の全ピクセルに関するこの値を平均することにより、それらの類似性を示す値が62で得られる。これは、2つのサブ領域間の平均二乗誤差(MSE)を表す。値が小さいほど、類似性は大きい。一番目の画像の各ピクセルに中心を置いたサブ領域に対して、二番目の画像から最も類似の領域であるMの各々の中心からの二次元での関連置換(Mは、オペレーターの設定によって変わり得る)が、70で等級順に記録される。

#### 【0039】

前記の結果は、偽適合を含めた多数の誤差を含むことを予測させる。アルゴリズム72～80での次の段階は、各ピクセルに中央に置かれる画像の局所領域における流れ(運動ベクトル)のコンセンサス方向および距離を見出すよう設計されている。これは、二番目の画像の加重中央値局所置換を確定し、76で最大類似性を生じることにより、好ましい一例示で実行される。前記の“局所領域”とは、ユーザーの確定するパラメーターであり、一般的には3×3又は5×5ピクセルである。中央値確定は、各ピクセルに関して記録された各置換に関して測定

された類似性に対する逆等級順から得られる因子により重みづけされる。この技法の明らかな拡張の1つは、サブピクセル精度を有する運動ベクトルを概算するために、中央値近くまで減少する運動ベクトルの平均を用いる。前記とわずかに変わる他の特定のアルゴリズムは、実質的に同一情報を生じ得る。本明細書中の請求事項は、単一ピクセル流概算値の、近ピクセル間の流れの方向の類似性に基づく概算値への変換である。

#### 【0040】

前記の分析後、分析される各ピクセル位置に関して、動作ベクトルが80で生成され、これは画像間間隔中に動いた赤血球の距離および方向を示す。

#### 【0041】

前記の説明は画像の単一对のみの分析に言及しているが、このような分析は得られたいくつかの画像対の各々に関して実行される。血流方向の地図は、多数のこのような画像対を分析することにより得られたコンセンサス結果から編集される。これらのベクトルの大きさを画像間間隔で割ることにより、流れの速度地図が82で作製され、これはカラー画像として表示され得る。明らかに、この画像はそれ自体、ノイズを低減するために空間的フィルタリングを実施する標準画像処理アルゴリズムを施され得る。この情報の表示は、血管の閾値画像から計算された局所血管直径についての情報と統合され得る。例えば、光学的に測定された血流量対血管直径を示し、患者間比較を可能にする測定基準を生じるグラフが生成される。

#### 【0042】

画像の相互作用分析は、アラインされ、標準化された画像から始まる。オペレーターは、2つの方法のうちの1つでこれらの画像を見ることができる。すなわち、第一に、自動分析のための手法と同様に、取得された試験から作製される平均化画像がオペレーターにより84で選択される画像対の各々から差し引かれる。さらに、明らかに、1対以上も用いられ得る。これら2つの画像は次に、迅速且つ交互に、速度が手動制御できるスクリーン上のウィンドウに表示される（動画86）。これが提供する動作の幻影により、相対的により大きい且つより少ない流量の領域をオペレーターは視覚的に検出し得る。自動的に生じた定量的流量

画像は、同時に表示されて、オペレーターの定性的印象を証明し得る。

#### 【0043】

第二の定性分析法は、88で一番目の画像から、対の二番目の画像を単純に差し引く。この直接差画像は、平均バックグラウンド画像と同一の動作信号を引き出すが、付加的な間の分析なしに、それを1つの画像に圧縮する。画像間間隔中に赤血球が（暗）から（明）に動いた領域を陰性値ピクセルを暗色で陽性値ピクセルを明色で示し、画像間のピクセル強度に変化が認められない場合に、ほとんど灰色の静止画像を生じる。この方法は、明らかに、赤血球が動いた距離が大きすぎない（細胞体の幅、又はそれより小さいオーダーで）場合、且つ個々の赤血球間の空間が、特に毛細血管の場合のように、相対的に透明である場合に、最良に行われる。フレーム間の間隔の制御は、最適画像の作製／選択を可能にする。

#### 【0044】

第6図の分析アルゴリズムフローチャートは、前記の分析方法を理論的に別個の枝として示すが、結果の理解を助けるために、オペレーターにとってできるだけ継ぎ目のないように分析の自動化および相互作用方式の間の切り換えをおこなうのは意味のあることである。この考えは、本発明の好ましい実施態様で履行されるが、その中で取得および分析ソフトウェアは、画像対間の、及びコンピューターモニター上に表示されるこれらの画像の種々の眺めの間の迅速且つ柔軟な動きを可能にするよう設計された。

#### 【0045】

本発明が前記で説明された実施態様の詳細に限定されないということ、ならびに本発明は、その精神又はその不可欠な属性を逸脱しない限り、他の特定の形態で具体化され得るということは、当業者には明らかである。したがって、本発明の実施態様は、すべての点において実例であり、限定的でないと考えられるべきであり、本発明の範囲は、前記の説明よりも添付の特許請求項の範囲により示されており、したがって、特許請求項と等価の意味及び範囲である内での変化はすべて、本明細書中に含まれるよう解釈される。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【図1】



図1は、第1図である。

血管中の血流量を非侵襲的に測定するための本発明のシステムを説明するブロック図である。

【図2】

図2は、第2図である。

画像処理技術を説明する。

【図3】

図3は、第3図である。

血管中の赤血球クラスターの動きを示す。

【図4】

図4は、第4図である。

画像取得のステップを説明するフローチャートである。

【図5】

図5は、第5図である。

画像取得、予備段階および画像処理のステップを説明するフローチャートである。

【図6】

図6は、第6図である。

自動および相互作用分析の両方を説明する本発明の方法のフローチャートである。

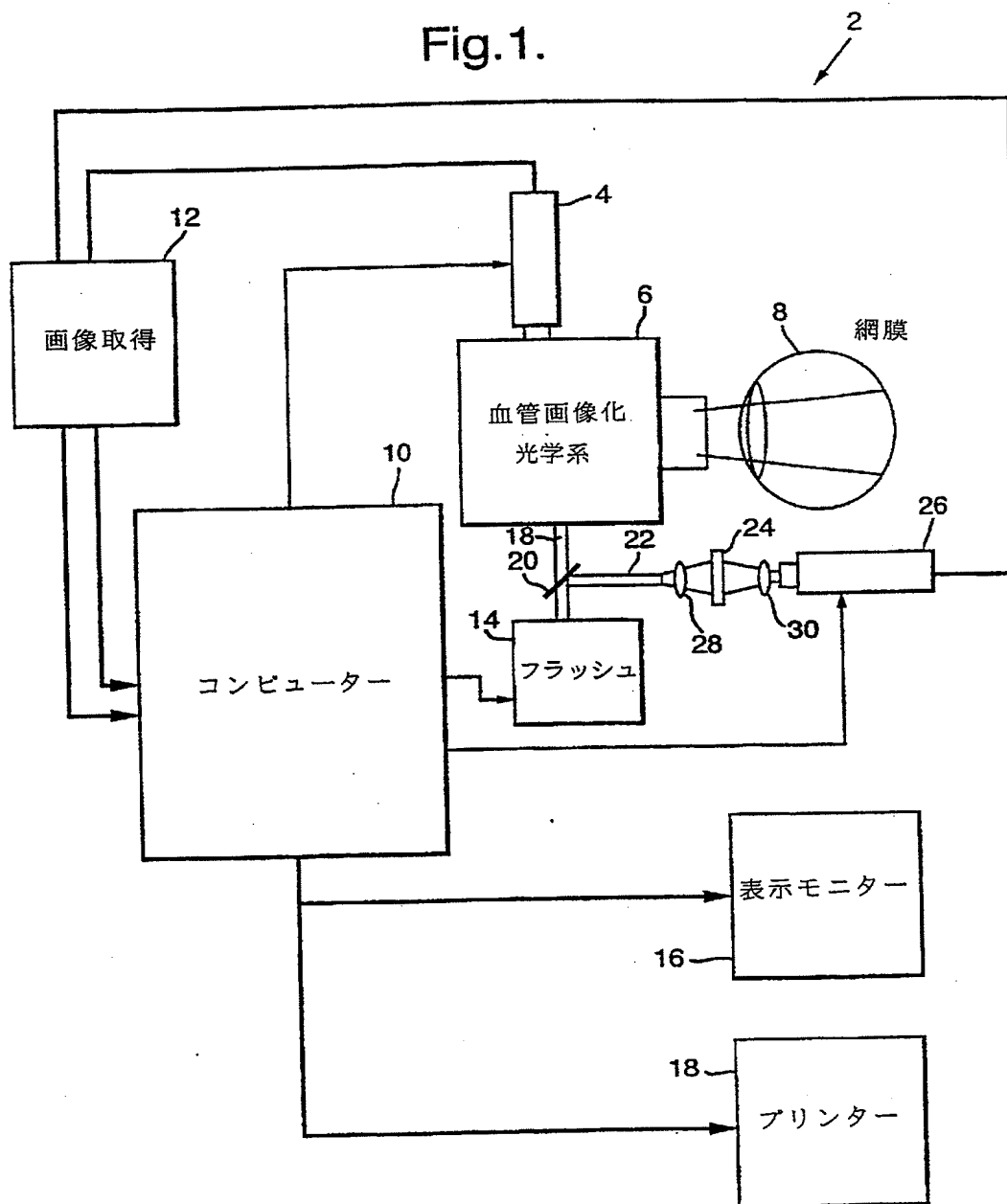
【図7】

図7は、第6図（続）である。

自動および相互作用分析の両方を説明する本発明の方法のフローチャートである。

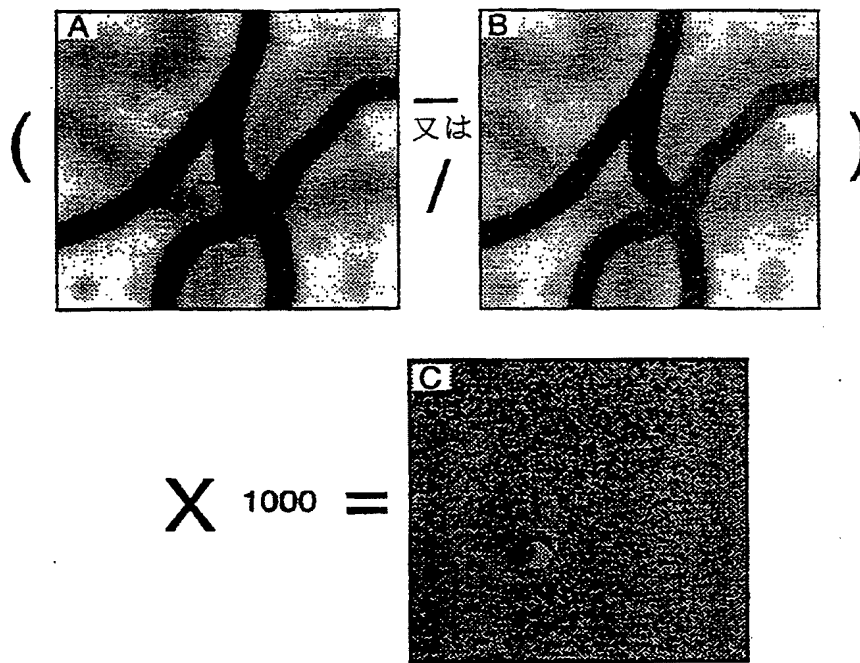
【図1】

Fig.1.



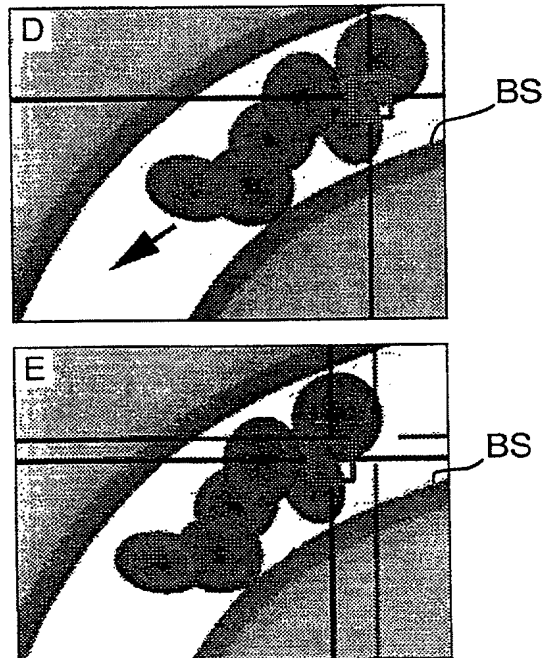
【図2】

Fig.2.



【図3】

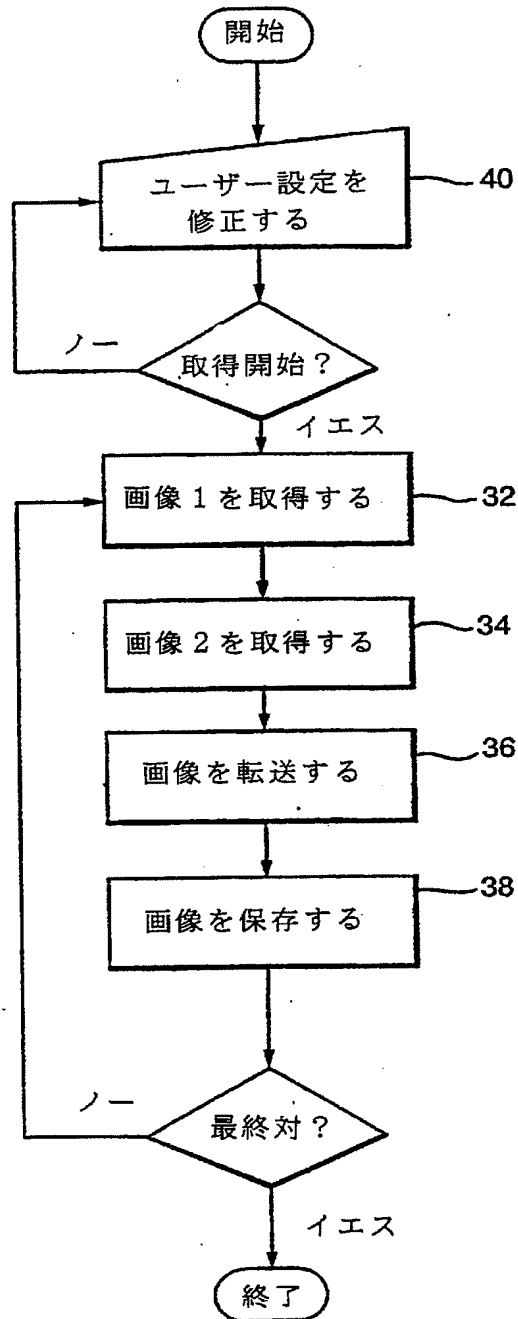
Fig.3.



【図4】

Fig.4.

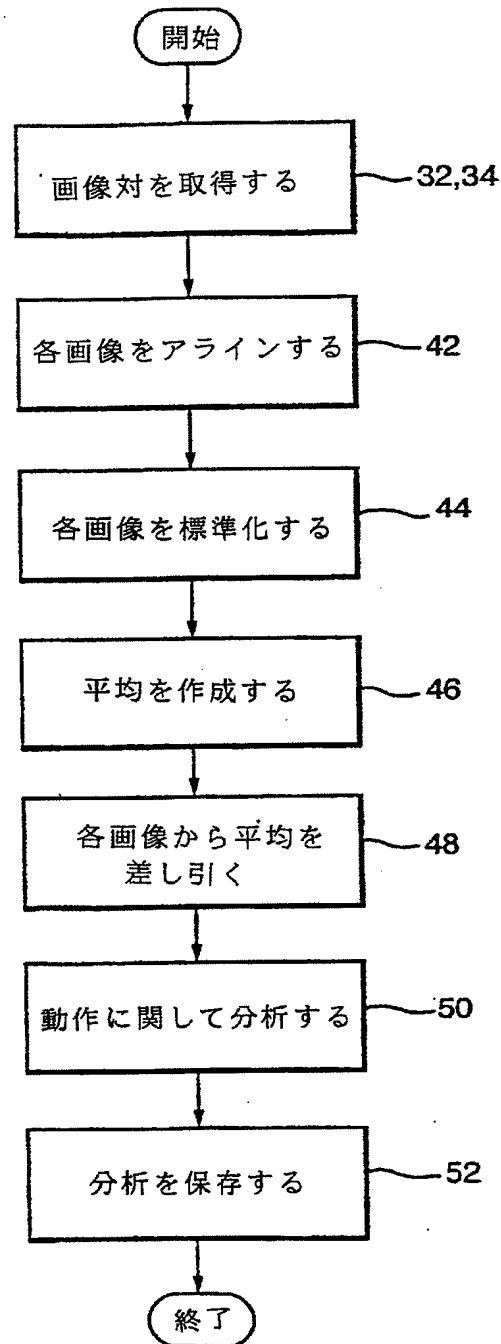
画像対を取得する



【図5】

Fig.5.

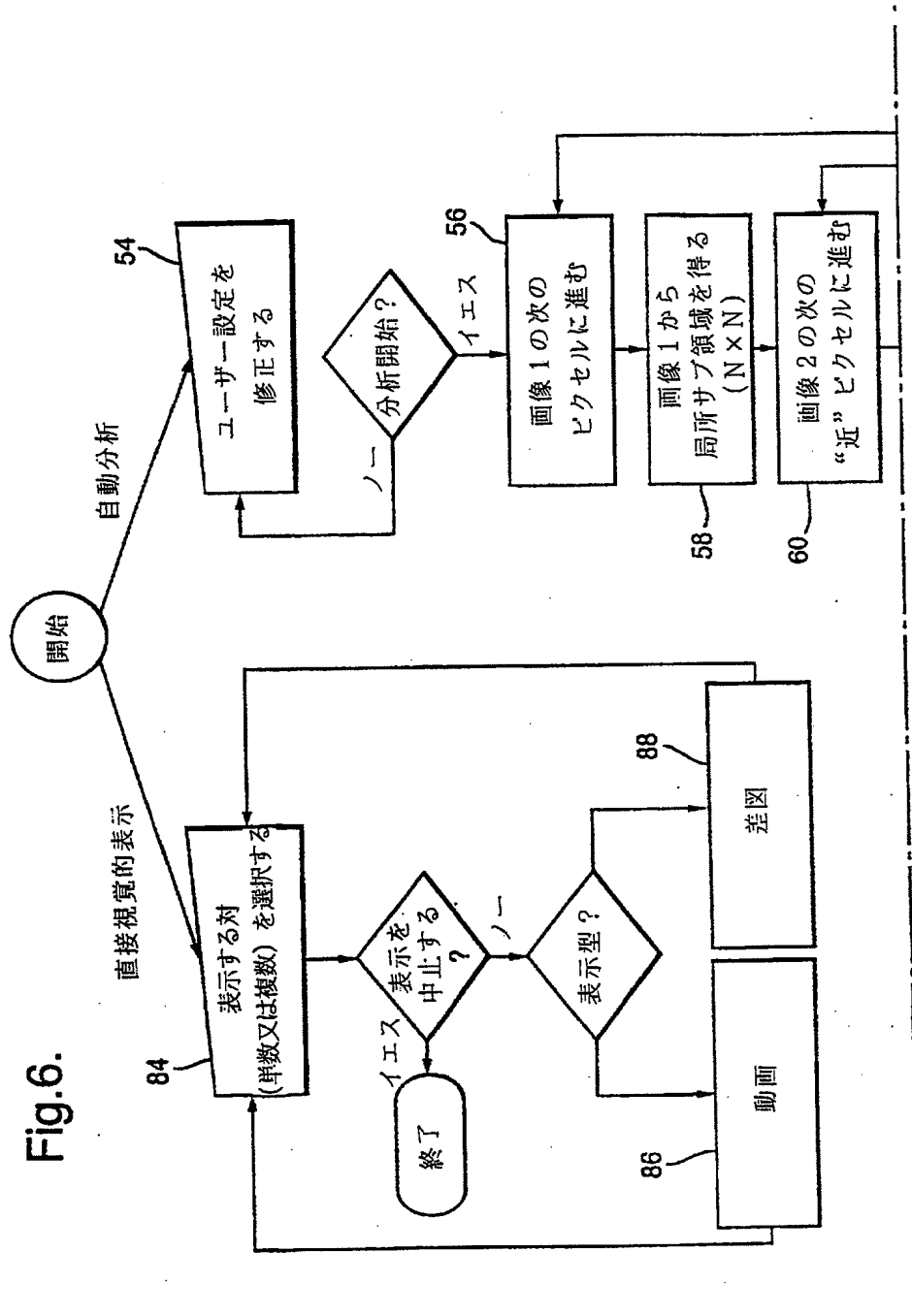
画像の主取得／分析



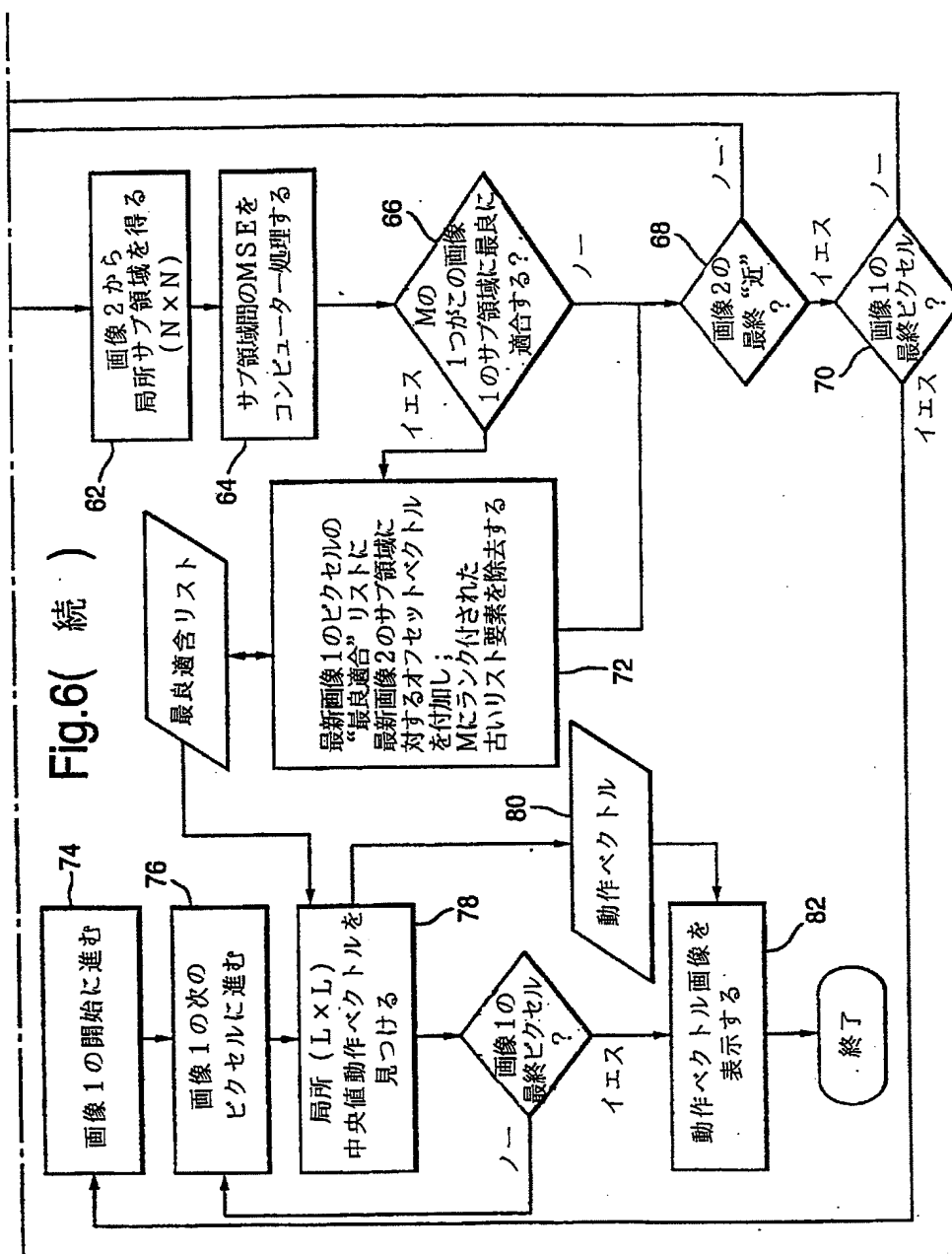
【図6】

動作に関して分析する（簡略化）

Fig.6.



【図7】



【手続補正書】 特許協力条約第34条補正の翻訳文提出書

【提出日】 平成12年5月27日 (2000. 5. 27)

【手続補正1】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 特許請求の範囲

【補正方法】 変更

【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 血管中の個々の赤血球の動きを直接画像化し、分析するためのシステムであって、

少なくとも2つのフレームを製作するための少なくとも1つの同一赤血球の少なくとも1対の画像であって、各々は予め設定された時間での前記フレームの各々における前記赤血球の位置のアナログ又はデジタル画像を表す画像を、予め設定された時間間隔内に取得するための画像化手段と、

機械読取り可能な形式でアナログ又はデジタル画像を収集および保存するための画像取得手段と、及び

前記少なくとも2つのフレームを処理するための、及び前記血管中の前記赤血球の動きを分析するための前記画像化手段および前記画像取得手段の操作を制御するためのコンピューターを含み、

前記画像化手段は、眼に対して完全に外部にある非侵襲的網膜画像化光学系であり、且つ、

前記コンピューターは、前記フレームに関して画像差分析を実施して、前記赤血球の動きから生じる動作信号を確定する手段を含むことを特徴とする、システム。

【請求項2】 前記画像化手段は、CCDカメラを含む請求項1記載のシステム。

【請求項3】 前記赤血球をそれらが画像化される時に照明するためのコンピューター制御フラッシュをさらに含む請求項1記載のシステム。

【請求項4】 前記コンピューター制御フラッシュは、前記CCDカメラと



一緒に操作する前記網膜画像化光学系により画像化され且つ検出される網膜赤血球の動作に対して十分強い光である2つのほぼ同一のフラッシュを伝達するための手段であって、5～100ミリ秒の時間間隔内で光の前記フラッシュの両方をさらに伝達し得る手段を含む前記請求項のいずれかに記載のシステム。

【請求項5】 逐次画像化中の赤血球の照明の変動を検出するための光学集成装置をさらに含む請求項1記載のシステム。

【請求項6】 取得画像および処理画像を表示するため、及び血管中の前記赤血球の動きの相互作用分析のために前記コンピューターに接続されるモニターをさらに含む請求項1記載のシステム。

【請求項7】 取得および処理画像をプリントするためのプリンターをさらに含む請求項1記載のシステム。

【請求項8】 血管中の個々の赤血球の動きを直接画像化し、分析するための方法であって、

少なくとも2つのフレームを製作するための少なくとも1つの同一赤血球の少なくとも1対の画像であって、各々は予め設定された時間での前記フレームの各々における前記赤血球の位置のアナログ又はデジタル画像を表す画像を、予め設定された時間間隔内に非侵襲的に取得することと、

機械読取り可能な形式でアナログ又はデジタル画像を収集および保存して、前記画像をコンピューターに適用して処理を促進することと、

前記少なくとも2つのフレームに関して画像差分析を実施して、前記赤血球の動きから生じる動作信号を確定することと、そして

前記血管中の前記赤血球の動きの定量的測定値を出すことと  
によって特徴づけられる方法。

【請求項9】 前記時間間隔は、5～100ミリ秒である請求項8記載の方法。

【請求項10】 複数のフレームを一緒にして平均してバックグラウンドブランクを構築し、そして前記少なくとも2つのフレームの各々から前記バックグラウンドブランクを差し引くことにより前記画像差分析が実施される請求項8記載の方法。

【請求項11】 前記赤血球を保有する血管の動きを補正するための前記画像各々の全体的アライメントの予備ステップをさらに含む請求項8記載の方法。

【請求項12】 前記フレーム間の照明小変動を補正するための前記フレームの画像明度の標準化の予備ステップをさらに含む請求項8記載の方法。

【請求項13】 前記フレームの取得時に前記血管を照明することをさらに含む請求項8記載の方法。

【請求項14】 前記画像および前記画像差分分析から生じる動作信号により製作される画像を表示して、それらの相互作用分析を可能にするステップをさらに含む請求項8記載の方法。

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/IL 99/00303

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 6 A61B3/12 A61B3/14		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC 6 A61B		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 96 17545 A (JOSLIN DIABETES CENTER INC ;BURSELL SVEN ERIK (US); AIELLO LLOYD M) 13 June 1996 (1996-06-13) page 19, line 1 - line 14 page 5, line 4 - page 10, line 17 page 16, line 10 - page 18, line 14; table 1	1-3  4,5,9
A	DE 196 50 117 A (MIRA GMBH) 4 June 1998 (1998-06-04) column 4, line 59 - column 6, line 6; tables 1,2	1-3
A	US 5 394 199 A (FLOWER ROBERT W) 28 February 1995 (1995-02-28) cited in the application abstract	1,9,11
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are filed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
20 August 1999		02/09/1999
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Weihs, J

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/IL 99/00303

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	P.S.JENSEN ET AL: "regional variation in capillary hemodynamics in the cat retina" INVESTIGATIVE OPHTHALMOLOGY AND VISUAL SCIENCE, vol. 39, no. 2, February 1998 (1998-02), pages 407-415, XP002112768	1-3
A	cited in the application page 408, left-hand column, line 7 - page 410, right-hand column, line 15; tables 1-5	9

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/IL 99/00303

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9617545 A	13-06-1996	AU 706720 B	24-06-1999
		AU 4512796 A	26-06-1996
		CA 2207318 A	13-06-1996
		JP 10510187 T	06-10-1998
DE 19660117 A	04-06-1998	NONE	
US 5394199 A	28-02-1995	WO 9609792 A	04-04-1996
		AU 8072294 A	19-04-1996
		EP 0801534 A	22-10-1997
		JP 10506550 T	30-06-1998

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY,  
DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, I  
T, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ  
, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML,  
MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, K  
E, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), E  
A(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ  
, TM), AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA  
, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU,  
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, G  
E, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS  
, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, M  
N, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU  
, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR,  
TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, Z  
W

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
 【部門区分】第1部門第2区分  
 【発行日】平成17年12月22日(2005.12.22)

【公表番号】特表2002-517269(P2002-517269A)  
 【公表日】平成14年6月18日(2002.6.18)  
 【出願番号】特願2000-552962(P2000-552962)  
 【国際特許分類第7版】

A 6 1 B 3/14

A 6 1 B 3/12

【F I】

A 6 1 B 3/14 Z

A 6 1 B 3/14 M

A 6 1 B 3/12 E

【手続補正書】

【提出日】平成16年9月29日(2004.9.29)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 血管中の個々の赤血球の動きを直接画像化し、分析するためのシステムであって、

少なくとも2つのフレームを製作するための少なくとも1つの同一赤血球の少なくとも1対の画像であって、各々の画像は予め設定された時間での前記フレームの各々における前記赤血球の位置のアナログ又はデジタル画像を表す画像を、予め設定された時間間隔内に取得するための画像化手段と、

機械読取り可能な形式でアナログ又はデジタル画像を収集および保存するための画像取得手段と、

前記少なくとも2つのフレームの処理、前記血管中の前記赤血球の動きの分析、ならびに前記画像化手段および前記画像取得手段の操作の制御のためのコンピューターとを含む

前記画像化手段は、眼に対して完全に外部にある非侵襲的網膜画像化光学系であり、且つ、

前記コンピューターは、前記フレームに関して画像差分析を実施して、前記赤血球の動きから生じる動作信号を確定する手段を含むことを特徴とする、システム。

【請求項2】 前記画像化手段は、CCDカメラを含む請求項1記載のシステム。

【請求項3】 前記赤血球をそれらが画像化される時に照明するためのコンピューター制御フラッシュをさらに含む請求項1記載のシステム。

【請求項4】 前記コンピューター制御フラッシュは、前記CCDカメラと一緒に操作する前記網膜画像化光学系により画像化され且つ検出される網膜赤血球の動作に対して十分強い光である2つのほぼ同一のフラッシュを伝達するための手段であって、5～100ミリ秒の時間間隔内で光の前記フラッシュの両方を伝達し得る手段を含む前記請求項1～3のいずれかに記載のシステム。

【請求項5】 逐次画像化中の赤血球の照明の変動を検出するための光学集成装置をさらに含む請求項1記載のシステム。

【請求項6】 取得画像および処理画像の表示、及び血管中の前記赤血球の動きの相互作用分析のために前記コンピューターに接続されるエーサーをさらに含む請求項1記載の

システム。

【請求項 7】 取得および処理画像をプリントするためのプリンターをさらに含む請求項 1 記載のシステム。

【請求項 8】 血管中の個々の赤血球の動きを直接画像化し、分析するための方法であって、

予め設定された時間間隔内に非侵襲的に取得された、少なくとも 2 つのフレームを製作するための少なくとも 1 つの同一赤血球の少なくとも 1 対の画像であって、各々の画像は予め設定された時間での前記フレームの各々における前記赤血球の位置のアナログ又はデジタル画像を表す画像を、機械読取り可能な形式で収集および保存して、前記画像をコンピュータに適用して処理を促進することと、

前記少なくとも 2 つのフレームに関して画像差分分析を実施して、前記赤血球の動きから生じる動作信号を確定することと、

前記血管中の前記赤血球の動きの定量的測定値を出すこととによって特徴づけられる方法。

【請求項 9】 前記時間間隔は、5 ～ 100 ミリ秒である請求項 8 記載の方法。

【請求項 10】 複数のフレームを一緒にして平均してバックグラウンドブランクを構築し、そして前記少なくとも 2 つのフレームの各々から前記バックグラウンドブランクを差し引くことにより前記画像差分分析が実施される請求項 8 記載の方法。

【請求項 11】 前記赤血球を保有する血管の動きを補正するための前記画像各々の全体的アライメントの予備ステップをさらに含む請求項 8 記載の方法。

【請求項 12】 前記フレーム間の照明小変動を補正するための前記フレームの画像明度の標準化の予備ステップをさらに含む請求項 8 記載の方法。

【請求項 13】 前記フレームの取得時に前記血管を照明することをさらに含む請求項 8 記載の方法。

【請求項 14】 前記画像および前記画像差分分析から生じる動作信号により製作される画像を表示して、それらの相互作用分析を可能にするステップをさらに含む請求項 8 記載の方法。



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-163534

(43) 公開日 平成7年(1995)6月27日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 B	5/0285			
	3/10			
	3/12			
		7638-4C	A 6 1 B 5/02	3 4 0 H
			3/10	R
審査請求 未請求 請求項の数3 F D (全 8 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願平5-343091

(22) 出願日 平成5年(1993)12月14日

(71) 出願人 000001007

キヤノン株式会社

東京都大田区下丸子3丁目30番2号

(72) 発明者 塚田 護

神奈川県川崎市中原区今井上町53番地 ㊦

キヤノン株式会社小杉事業所内

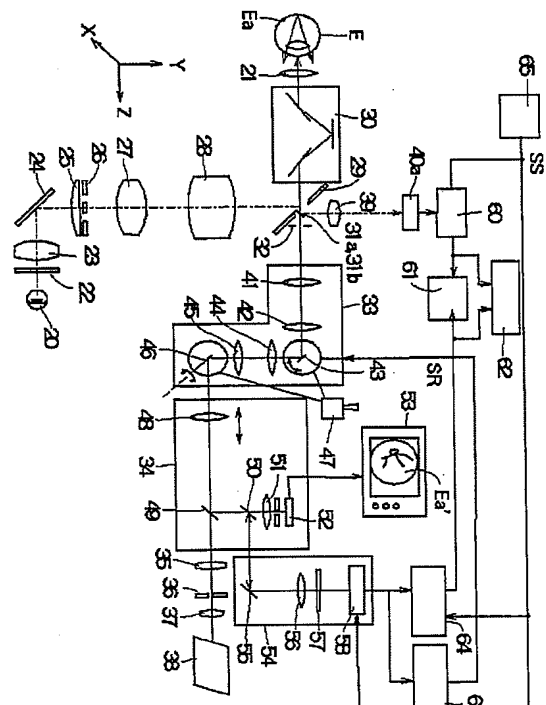
(74) 代理人 弁理士 日比谷 征彦

(54) 【発明の名称】 眼底血流速度測定方法及び測定装置

(57) 【要約】

【目的】 眼底の血流速度を測定する際に心臓の鼓動に応じてその流速が変化しても、実時間で血流速度を測定する。

【構成】 He-Neレーザー光を出射する測定用光源38からの光束が、眼底Ea上の血管Evに投射され、血管Evからの反射光は孔あきミラー30の後方の小ミラー対31a、31bで反射され、フォトマルチプライヤ40a、40bで受光される。フォトマルチプライヤ40a、40bからのドップラ信号を位相同期ループ回路76に入力し、その自走周波数をドップラ信号が存在しない高周波数側から接近させることにより、層流を成す血管Evの最大血流速度に位相同期を掛け、更に位相同期ループ回路76に適当な入力感度と同期レンジを設定して、実時間で血流速度を測定する。



## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 可干渉光を眼底上の血管を含む領域に照射し、該領域からの散乱光を受光し、受光成分に含まれるドップラ信号に基づいて、前記血管の血流速度を求める眼底血流速計において、前記受光出力信号に対し固定又は可変の変調レンジを有する位相同期ループフィルタを高周波側から接近させ、層流を成す血管からの反射光に含まれるドップラ信号の最大周波数に位相を同期させ、前記血管の最大血流速度を測定することを特徴とする眼底血流速度測定方法。

【請求項 2】 前記最大血流速度が心臓の鼓動に応じて周期的に変化する場合に、その周波数の変動幅に対応する同期レンジと、ドップラ信号の強度に対応する入力感度とを選択して、適時位相同期ループ回路に設定することによって、実時間で最大周波数を計測する請求項 1 に記載の眼底血流速度測定方法。

【請求項 3】 可干渉光を眼底上の血管を含む領域に照射する照射手段と、該領域からの反射光を受光する受光手段と、該受光手段により検出される受光成分に含まれるドップラ信号に基づいて前記血管の血流速度を測定する測定手段とを有する眼底血流計において、前記受光手段からの信号を調節するゲイン可変式増幅手段と、該増幅手段からの信号に位相を同期をさせる位相同期ループ回路と、前記増幅手段及び前記位相同期ループ回路を制御して前記血管の血流速度を測定する制御手段とを備えたことを特徴とする眼底血流速度測定装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、眼底上の血管内の血流測定を行う眼底血流速度測定方法及び測定装置に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】 従来のドップラ信号を用いて移動物体を検出する例は、移動する物体が単一であるために、得られる信号が物体の速度に比例した単一の周波数である場合が多い。これに対し血管内では血流は層流を成すため、得られるドップラ信号は連続した多数のスペクトラムで構成されている。従って、最大周波数のドップラ信号を求める手段としては、デジタルフーリエ変換 (DFT) や、非常に狭い帯域のバンドパスフィルタを掃引するスペクトラムアナライザ方式によって、最大周波数のドップラ信号を求める眼底血流計が知られている。

【0003】 例えば、図 10 は従来のスペクトラムアナライザ方式による眼科血流速計であり、眼科診断に通常用いられるスリットランプを改造したものである。白色観察用光源 1 から出射し、孔あきミラー 2 で反射された照明光は、スリット 3、レンズ 4 を通り、被検眼 E の角膜の屈折力を相殺して眼底 Ea を観察可能とするコンタクトレンズ 5 を介して、眼底 Ea 上の測定血管 Ev を照明する。測定用の He-Ne レーザ光源 6 から出射した

レーザー光は、孔あきミラー 2 の中央の孔を通り、照明光と同軸にされた後に同様に測定血管 Ev を照明する。

【0004】 血管 Ev 内を流れる血球及びそれ以外の眼底部から散乱反射されたレーザー光は、 $\alpha'$  の角を成す方向からそれぞれ対物レンズ 7 a、7 b、ミラー 8 a、8 b、9 a、9 b、ファイバ 10 a、10 b を介してフォトマルチプライヤ 11 a、11 b で受光される。この受光信号は血管 Ev 内を流れる血流によりドップラシフトを受けた成分と、眼底 Ea で反射された成分とが干渉するため、所定のビート信号を含んでいる。このビート信号を周波数解析することによって血管 Ev 内の血流速度が求められる。なお、測定血管 Ev を含む眼底 Ea は対物レンズ 7 a、7 b、ミラー 8 a、8 b、9 a、9 b、接眼レンズ 12 a、12 b によって検者による観察が可能である。検者は眼底像を観察しながらレーザー光を血管 Ev に照射するという操作を行う。

【0005】 図 11 はスペクトラムアナライザを用いて受光信号を解析した結果の一例であり、横軸は周波数  $\Delta f$ 、縦軸はそのパワー  $\Delta S$  を示している。図示の  $\Delta f_{\max}$  が各受光信号から算出され、これから血管 Ev 内の血流の最大速度  $V_{\max}$  が算出される。即ち、 $\Delta f_{\max} = (\kappa_s - \kappa_i) \cdot v$  であり、ここで、 $\kappa_s$ 、 $\kappa_i$  はそれぞれ受光方向、入射方向の波数ベクトル、 $v$  は血流の速度ベクトルである。各受光信号からのそれぞれの最大ドップラシフトの結果を  $\Delta f_{\max 1}$ 、 $\Delta f_{\max 2}$  とすると、 $V_{\max} = \lambda \cdot |\Delta f_{\max 1} - \Delta f_{\max 2}| / (n \cdot \alpha \cdot \cos \beta)$  となる。ここで、 $\lambda$  はレーザー光の波長、 $n$  は測定部位の屈折率、 $\alpha$  は眼内における 2 つの受光方向の成す角、 $\beta$  は 2 つの受光方向の作る平面と血流の方向との成す角である。このようにして、入射光の方向に係る寄与は相殺され、眼底 Ea 上の任意の部位の血流を測定することができる。

【0006】 図 12 は検者により観察される眼底像の一例である。測定対象の血管 Ev は接眼レンズ 12 a、12 b の焦点面に用意されたスケール SC に合軸される。PS は測定用 He-Ne レーザ光のスポットを示し、I は照明光により照明されている領域を示している。また、2 つの受光方向の作る面と眼底 Ea との交線 A と、血管 Ev の流れの方向の速度がベクトル  $v$  との成す角が  $\beta$  である。従って、真の血流速度を測定するためには、交線 A を速度ベクトル  $v$  に一致させるという操作が必要となる。これは受光光学系全体を回転させるか、又は受光光学系中にイメージローテータを配置して光学的に一致させることにより行われる。

## 【0007】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら、上述の従来例の眼底血流計において、特にその最大周波数のドップラシフトを測定する際には、スペクトラムアナライザ方式での位相同期ループ (以下 PLL という) フィルタの掃引時間や、DFT 方式でのサンプリング時間などによって制約を受けることになるので、実時間で連続的

に最大周波数のドップラ信号を測定することは困難である。

【0008】本発明の目的は、位相同期ループ回路を用いて最大周波数のドップラ信号の位相を同期させることによって、心臓の鼓動に応じて周期的に変化する最大周波数を、連続的に実時間で測定することを可能にする眼底血流速度測定方法及び測定装置を提供することにある。

#### 【0009】

【課題を解決するための手段】上述の目的を達成するための本発明に係る眼底血流速度測定方法は、可干渉光を眼底上の血管を含む領域に照射し、該領域からの散乱光を受光し、受光成分に含まれるドップラ信号に基づいて、前記血管の血流速度を求める眼底血流速度計において、前記受光出力信号に対し固定又は可変の変調レンジを有する位相同期ループフィルタを高周波側から接近させ、層流を成す血管からの反射光に含まれるドップラ信号の最大周波数に位相を同期をさせ、前記血管の最大血流速度を測定することを特徴とする。

【0010】また、本発明に係る眼底血流速度測定装置は、可干渉光を眼底上の血管を含む領域に照射する照射手段と、該領域からの反射光を受光する受光手段と、該受光手段により検出される受光成分に含まれるドップラ信号に基づいて前記血管の血流速度を測定する測定手段とを有する眼底血流計において、前記受光手段からの信号を調節するゲイン可変式増幅手段と、該増幅手段からの信号に位相を同期をさせる位相同期ループ回路と、前記増幅手段及び前記位相同期ループ回路を制御して前記血管の血流速度を測定する制御手段とを備えたことを特徴とする。

#### 【0011】

【作用】上述の構成を有する眼底血流速度測定方法は、可干渉光の眼底血管からの反射光を受光し、受光信号に含まれるドップラ信号を適当な大きさの信号に処理した後位相同期ループ回路に入力する。位相同期ループ回路はその自走周波数を、実際のドップラ信号が存在しない大きい周波数域から近付けることによって、層流を成す血管の最大血流速度に位相を同期させる。

【0012】また、上述の構成を有する眼底血流速度測定装置は、照射手段により眼底上の血管に可干渉光を照射し、この反射光を受光手段により受光し、検出されたドップラ信号をゲイン可変式増幅手段により増幅し、位相同期ループ回路によりその最大周波数に位相を同期させて血管の最大血流速度を測定する。

#### 【0013】

【実施例】本発明を図1～図9に図示の実施例に基づいて詳細に説明する。図1は本実施例による眼底血流計の構成図であり、眼底カメラの形式を利用している。ハロゲンランプ等から成る照明用光源20から対物レンズ21に至る光路には、可視光カットフィルタ22、コン

デンサレンズ23、ミラー24、フィールドレンズ25、リングスリット26、リレーレンズ27、28、孔あきミラー29、イメージローテータ30が配列されている。

【0014】更に、孔あきミラー29の背後の光路上には、小ミラー対31a、31b、アパーチャ32、イメージスタビライザ33、観察光学系34、レンズ35、アパーチャ36、レンズ37、He-Neレーザ光を出射する測定用光源38が配列されている。小ミラー対31a、31bのそれぞれの反射方向の光路上には、レンズ39a、39b、フォトマルチプライヤ40a、40bが配置されている。なお、図1には重複を避けるために、小ミラー対31a、31bのうち、小ミラー31aの光軸上の部材のみを示してある。

【0015】イメージスタビライザ33には、レンズ41、42、ガルバノメトリックミラー43、レンズ44、45、ガルバノメトリックミラー46が順次に配列されており、ガルバノメトリックミラー43、46は外部に付設された操作桿47の操作により回転されるようになっている。このイメージスタビライザ33では、眼底Eaがレンズ41、42によりガルバノメトリックミラー43と共役に、更にレンズ44、45によりガルバノメトリックミラー46と共役にされている。ガルバノメトリックミラー43の回転軸は紙面に対し垂直に設定され、ガルバノメトリックミラー46の回転軸はこの回転軸に直交し、紙面と平行な方向に設定されている。

【0016】観察光学系34には、光路上を移動し得るフォーカシングレンズ48、ダイクロイックミラー49が設けられ、ダイクロイックミラー49の反射方向に、ハーフミラー50、レンズ51を介してテレビカメラ52が配置され、テレビカメラ52の出力はテレビモニタ53に接続されている。また、ハーフミラー50の反射方向には血管検出系54が設けられ、ミラー55、レンズ56、フィルタ57を介して、イメージインテンシファイヤ付きの一次元CCDセンサ58が配置されている。

【0017】フォトマルチプライヤ40a、40bの出力は血流速度算出部60の入力側に接続され、血流速度算出部60の出力は血流量算出部61と表示部62に接続され、血流量算出部61の出力も表示部62に接続されている。一次元CCDセンサ58の出力はトラッキング制御部63、血管径算出部64に接続されており、制御部63の出力はガルバノメトリックミラー43に接続され、血管径算出部64の出力は血流量算出部61と表示部62に接続されている。また、同期信号発生回路65の出力信号が、CCDセンサ58、血流速度算出部60、血管径算出部64に接続されている。

【0018】上述の構成を有する眼底血流計において、照明用光源20から発せられた照明光は、フィルタ22、コンデンサレンズ23、ミラー24を介してリング

スリット 26 に結像される。リングスリット 26 はリレーレンズ 27、28 により孔あきミラー 29 に一度結像された後に、イメージローテータ 30 を通り対物レンズ 21 により再び被検眼 E の瞳上に結像され、眼底 Ea をほぼ一様に照明する。なお、フィールドレンズ 25 は光束を効率良く被検眼 E 内に導く作用をする。

【0019】眼底 Ea からの反射光は、再び対物レンズ 21、イメージローテータ 30 を通り、孔あきミラー 29 の中央の孔部、アパーチャ 32 を通り、イメージスタビライザ 33 を通過した後に観察光学系 34 へ導かれる。イメージスタビライザ 33 では、操作桿 47 の操作によりガルバノメトリックミラー 43、46 を回転移動させ、眼底 Ea 上の測定部位を指定することができる。

【0020】観察光学系 34 では、フォーカシングレンズ 48、レンズ 51 は共働してテレビカメラ 52 に眼底像 Ea' を結像する。ダイクロイックミラー 49 及びハーフミラー 50 は、それぞれ測定用レーザー光源 38 及び血管検出系 54 の光路の合成、分離のためのものである。テレビカメラ 52 の出力はモノクロのテレビモニタ 53 に表示され、検者はその眼底像 Ea' を用いて装置のアライメント及び測定部位の選択を行う。

【0021】血管検出系 54 において、ハーフミラー 50 により分配された光束は、ミラー 55、レンズ 56 により、テレビカメラ 52 に結像する像よりも強拡大した像を、一次元 CCD センサ 58 上に結像する。CCD センサ 58 の手前にはフィルタ 57 が設けられ、測定用レーザー光の波長を遮光する作用をする。従って、測定用レーザー光のスポットは CCD センサ 58 上には到達せず、CCD センサ 58 は照明用光源 20 からの照明光のみによる血管像を撮像する。

【0022】CCD センサ 58 の出力はトラッキング用制御部 63 へ送られ、この制御部 63 は血管像を解析し、CCD センサ 58 上での血管 Ev の一次元の移動量を算出することによって、ガルバノメトリックミラー 43 の駆動信号 SR を作成する。

【0023】図 2 はガルバノメトリックミラー 43 の駆動信号 SR の作成過程を示すブロック回路構成図である。一次元 CCD センサ 58 の出力は増幅器 66 を経て A/D 変換器 67 に接続され、A/D 変換器 67 の出力は加算器 68 を介して比較器 69 に接続されている。比較器 69 の出力は増幅器 70、D/A 変換器 71 を介して制御部 63 に接続されている。なお、CCD センサ 58、A/D 変換器 67 には同期信号発生回路 65 の同期信号 SS が接続されている。また、制御部 63 からの駆動信号 Sr がガルバノメトリックミラー 43、46 に接続されている。

【0024】256 個のピクセルから成る一次元 CCD センサ 58 の出力は増幅器 66 で増幅され、A/D 変換器 67 でデジタル化される。その後、1~128 ピクセルの出力を加算したものと、129~256 ピクセル

の出力を加算したものとを、比較器 69 で比較することにより血管 Ev の移動方向が分かる。その方向を表す信号に予め定められたステップサイズを乗じた後に、D/A 変換器 71 で D/A 変換を行う。その値に基づいて、制御部 63 はガルバノメトリックミラー 43 を駆動する。本実施例では、1 KHz の周波数でこの操作を繰り返すことによって、眼球運動により移動する測定対象血管 Ev の位置と、レーザー光の照射位置及び検出位置との関係を一定に保つように自動追跡を行う。

【0025】ガルバノメトリックミラー 43 に関しては、制御部 63 からの駆動信号 SR によって、被検眼 E の固視微動を一方向に関してのみ補償する働きをする。即ち、一度検者が測定したい血管 Ev を指定した後においては、常に一次元 CCD センサ 58 上の血管 Ev 位置が一定となるようガルバノメトリックミラー 43 が駆動される。このとき、測定用光源 38 を発した測定用レーザー光は、ダイクロイックミラー 49 によって観察光学系 34 と同軸になった後に、その光路を逆に辿って被検眼 E の眼底 Ea 上に導かれるため、常に選択された血管 Ev 上に存在することが同時に保証される。

【0026】測定用レーザー光はダイクロイックミラー 49 により観察光学系 34 に結像される前に、レンズ 37 により眼底 Ea と共役な位置のアパーチャ 36 にスポットを形成し、レンズ 35 を経てその共役関係が調整されている。従って、検者がフォーカシングレンズ 48 を光軸上を移動して眼底 Ea のピント合わせを行うと、テレビカメラ 52 の撮像面、一次元 CCD センサ 58 の撮像面、測定光スポットが同時に眼底 Ea と共役になる。

【0027】被検眼 E の眼底 Ea 上の血管 Ev で反射された測定用レーザー光は、同様に対物レンズ 21、イメージローテータ 30 を通り受光されるが、そのうちの一部分は孔あきミラー 29 の後方に設けられた小ミラー対 31 a、31 b で反射された後に、それぞれレンズ 39 a、39 b を経てフォトマルチプライヤ 40 a、40 b で受光される。また、反射されない部分はそのまま観察光学系 34 へ導光され、テレビカメラ 52 で測定部位を示す指標としての作用をする。

【0028】図 3 は小ミラー対 31 a、31 b 及び照明光束、観察光束の瞳孔上の配置を示している。31 a'、31 b' はそれぞれ小ミラー対 31 a、31 b の像で受光用の光束位置を示し、32' はアパーチャ 32 の像で観察用光束及び測定用レーザー光の位置、26' はリングスリット 26 の透光部の像で照明光束の位置を示している。受光用光束位置 31 a'、31 b' から測定部位を見込む角は、図 10 における測定角  $\alpha$  を形成する。従って、フォトマルチプライヤ 40 a、40 b で受光された信号を従来例と同様に処理することによって、測定対象となっている血管 Ev 内の血流速度を求めることができる。

【0029】図 4 はテレビモニタ 46 で観察される眼底

像Ea'の様子を示し、座標軸Aの方向は小ミラー対31a、31bの中心を結んだ平面と被検眼Eの眼底Eaと交差線の方向を示し、Sは測定用レーザー光の像で測定部位を示している。検査者は操作棒47を操作し、測定すべき血管とスポットSを合致させる。このとき検査者にはスポットSは視野に対し中心に位置したまま固定であり、眼底像Ea'が移動して観察される。

【0030】その後イメージローテータ30を回転し、測定すべき血管Evの走行方向を軸Aの方向に合致させる。これは、図12において $\beta=0^\circ$ とすることを意味している。即ち、イメージローテータ30を回転すると眼底像Ea'が図の矢印Eの方向に視野の中心を軸として回転する。このように測定部位が選択されている場合においては、血管検出系54のCCDセンサ58は軸Aと直交する方向のD軸方向の一次元像を撮像することになる。即ち、測定中においてはD方向における血管Evの位置が一定となるように、イメージスタビライザ33のガルバノメトリックミラー43が駆動される。

【0031】従来例で述べたように、速度検出の原理は、血管壁からの散乱反射光と血流中の散乱反射光との干渉信号から得られるので、測定中において軸Aの方向に眼球が移動しても、血管EvはA方向にほぼ平行なため、その測定結果は影響を受けない。一方、D方向に移動した場合には、測定用レーザー光が血管Ev上から逸脱してしまい測定が不能となる。このため、血管検出系54とイメージスタビライザ33は共働してこの軸D方向の一次元トラッキングを行う。

【0032】図5は血流速度算出系のブロック回路構成図を示し、フォトマルチプライヤ40a、40bの出力はゲイン可変式増幅器75に接続され、このゲイン可変式増幅器75の出力は位相同期ループ回路76と検波回路77に接続されている。また、検波回路77の出力はA/D変換器78を介してMPU(マイクロプロセッサユニット)79に接続されている。更に、MPU79の出力はフォトマルチプライヤ40a、40b及び位相同期ループ回路76に接続されている。

【0033】眼底Eaからの散乱反射光は、小ミラー対31a、31bで反射され、フォトマルチプライヤ40a、40bで受光されると、フォトマルチプライヤ40a、40bから出力される信号は血流速度算出部60に導かれる。ここでは、先ず受光したドップラビート信号DBをゲイン可変式増幅器75で増幅し、増幅された信号は検波回路77を通して信号強度に変換され、A/D変換器78を通してその信号強度がMPU79により読み取られる。その後、予め決めてある位相同期ループ信号の入力感度に適合するように、増幅手段ゲイン制御信号線W1を通して増幅器75のゲインが設定される。これにより、適当な大きさに調整されたドップラビート信号DBは位相同期ループ回路76に入力される。

【0034】MPU79は位相同期ループ信号の自走中

心周波数SFを制御する信号線W2を通して、ドップラビート信号DBには存在しない程度の高い周波数から最大ビート周波数に向けて自走中心周波数SFを掃引させる。最大ビート周波数が見付かると、位相同期ループ回路76は同期検出信号線W3により同期検出信号LDをMPU79に送る。MPU79は同期検出信号LDを確認した上で、その同期した周波数を信号線W4により読み取る。また、同期レンジは信号線W5により予めその範囲を設定しておく。

【0035】図6及び図7はドップラビート信号DBの測定データの例を示し、図6は自走中心周波数SFを最大ビート周波数に向けて掃引しているところで、図7は最大ビート周波数を検知し、同期検出信号LDを立ち上げたところである。

【0036】図8は血管径算出部64のブロック回路構成図、図9はそのタイミングチャート図である。同期信号発生回路65からの同期信号SSに同期して、一次元CCDセンサ58からイメージ信号SGが比較器81に入力される。比較器81は予め定められた基準電圧発生回路82からの基準電圧Vcとイメージ信号SGとを比較して、比較器出力Waを積分器83に入力する。積分器83では比較器81の出力Waを積分し積分器出力Vを得る。この積分器出力Vは初期化信号発生回路84からの初期化信号ISによって各測定毎にクリアされ、クリアされる直前の信号Vが血管径に対応している。

【0037】同期信号発生回路65は測定のタイミングを表す同期信号SSを一次元CCDセンサ58と血流速度算出部60とに供給している。同期信号SSに同期して、CCDセンサ58から測定部位のイメージが、トラッキング用制御部63と血管径算出部64とに供給される。制御部63ではガルバノメトリックミラー43の駆動信号SRが作られ、血管径算出部64では血管径が算出される。血流量算出部61では、血管径算出部64及び血流速度算出部60からそれぞれ供給される血管径及び血流速度から血流量を算出する。血管径、血流速度、血流量は、例えばCRT、プロッタ等のような表示部62に表示され、実時間で血管径、血流速度、血流量を観測することを可能にする。これらの情報を基にして、例えば動脈硬化、糖尿病等の医学的診断に役立てることができ

る。

【0038】血管に限らず管内を流れる物体からドップラビート信号DBが得られる場合に、乱流状態となる状況が無ければ、管内の流体は層流を成すために、管壁を流れる最も遅い粒子から管の中心を流れる最も早い粒子まで、そのドップラビート信号DBは連続した周波数成分を持つ。中心を流れる最も早い粒子から得られる最大ビート周波数よりも高い周波数域においては、それ以下の周波数域と比べて、より大きい振幅の信号成分は存在しないので、本実施例のように位相同期ループ回路76の入力感度を適当に設定し、最大ビート周波数よりも高い周

10

20

30

40

50

波数から位相同期ループ回路 76 の自走周波数（中心周波数）SF を低周波側へ移動してゆけば、管の中心を流れる最大ビート周波数に位相同期ループ回路 76 の自走周波数 SF を同期させることができる。更に、位相同期ループ回路 76 のフィルタ帯域（変調レンジ）を、心臓の鼓動によって変動する最大ビート周波数の変動帯域と同程度又は少々大きめとすることによって、実時間に最大ビート周波数に位相同期ループ回路 76 の自走周波数 SF を追従させて位相同期し、その位相同期した自走周波数 SF から血流速度を実時間に求めることができる。

#### 【0039】

【発明の効果】以上説明したように本発明に係る眼底血流速度測定方法は、眼底血管からの反射光に含まれるドップラシフト信号を、位相同期ループ回路により位相を同期させ、その最大周波数を求めることにより、周期的に変化する血流速度を容易にかつ正確に実時間により測定することができる。

【0040】また、本発明に係る眼底血流速度測定装置は、眼底血管からの反射光に含まれるドップラシフト信号を調節する増幅手段と、この信号に位相を同期させる位相同期ループ回路と、これらを制御する MPU とを備えることにより、スペクトラムアナライザ方式に見られるような掃引時間を必要とせず、迅速かつ容易な血流速度の測定を行うことができる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図 1】本実施例の構成図である。

【図 2】制御部のブロック回路構成図である。

【図 3】照明光束と観察光束の関係の説明図である。

【図 4】観察眼底像の説明図である。

【図 5】血流速度算出部のブロック回路構成図である。

【図 6】ドップラビート信号の測定例のグラフ図である。

【図 7】ドップラビート信号の測定例のグラフ図である。

【図 8】血管径算出部のブロック回路構成図である。

【図 9】血管径算出部のタイミングチャート図である。

【図 10】従来例の構成図である。

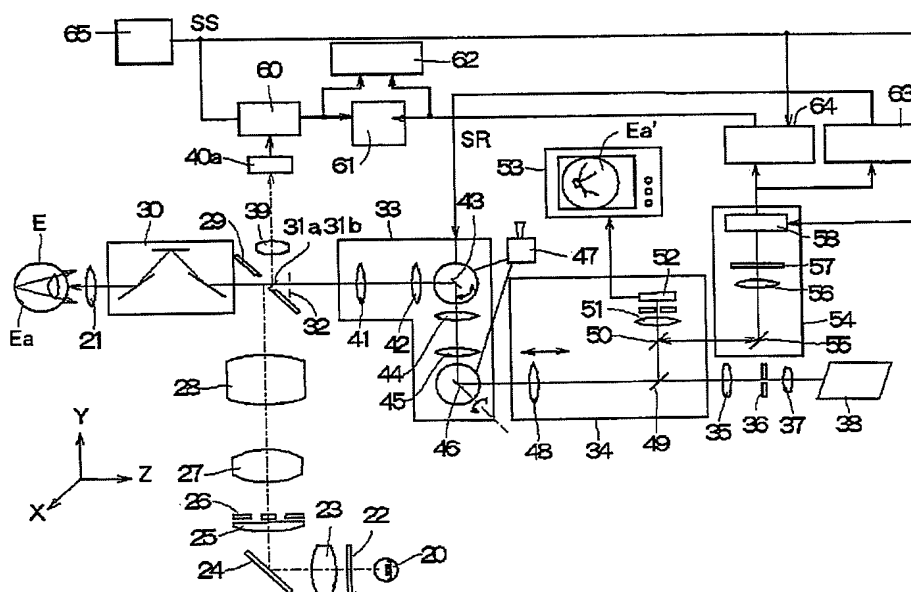
【図 11】受光信号の周波数分析のグラフ図である。

【図 12】観察眼底像の説明図である。

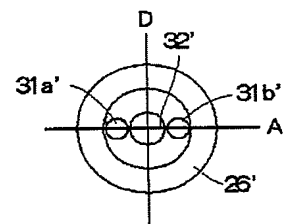
#### 【符号の説明】

- 30 イメージローテータ
- 31 a、32 b 小ミラー対
- 33 イメージスタビライザ
- 34 観察光学部
- 38 測定用光源
- 43、46 ガルバノメトリックミラー
- 52 テレビカメラ
- 53 テレビモニタ
- 54 血管検出部
- 58 CCD センサ
- 60 血流速度算出部
- 61 血流量算出部
- 63 制御部
- 64 血管径算出部
- 65 同期信号発生回路
- 75 ゲイン可変式増幅回路
- 76 位相同期ループ回路
- 77 MPU

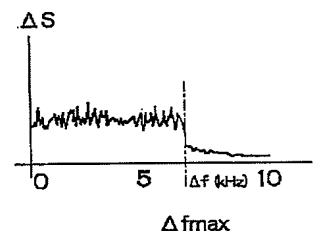
【図 1】



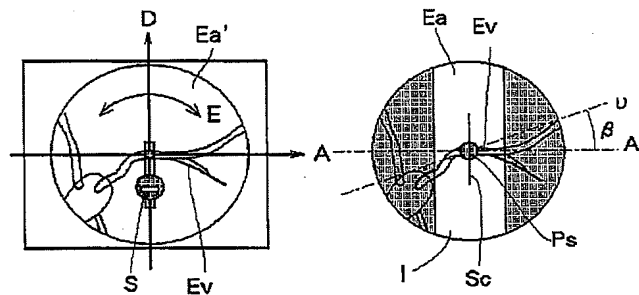
【図 3】



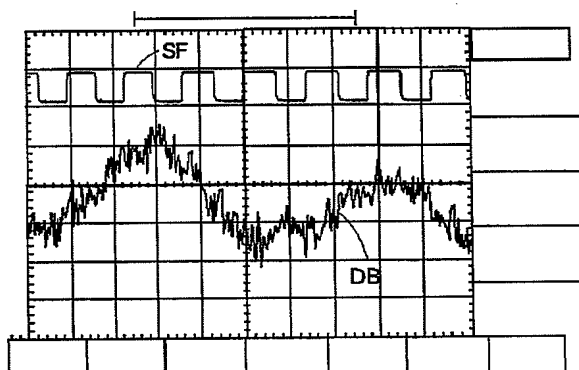
【図 11】



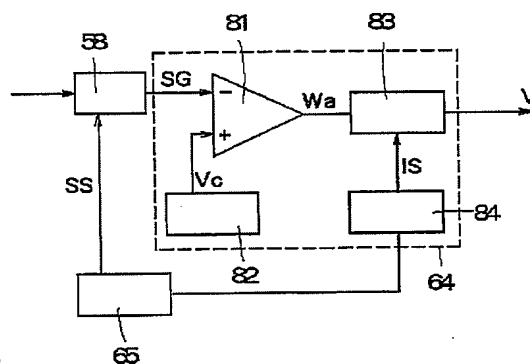
【图 12】



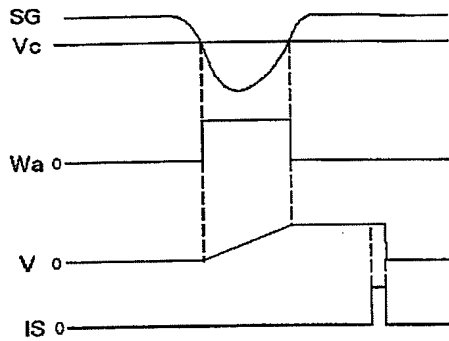
【圖 6】



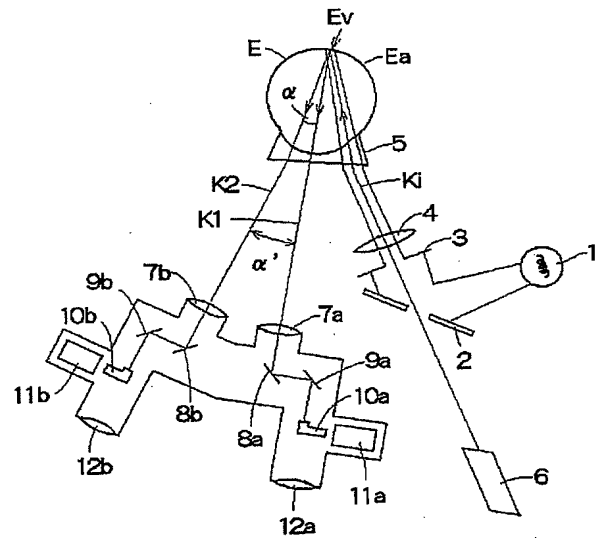
【图 8】



【図9】



【図10】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>

識別記号

庁内整理番号

F I

A 6 1 B 3/12

技術表示箇所

E





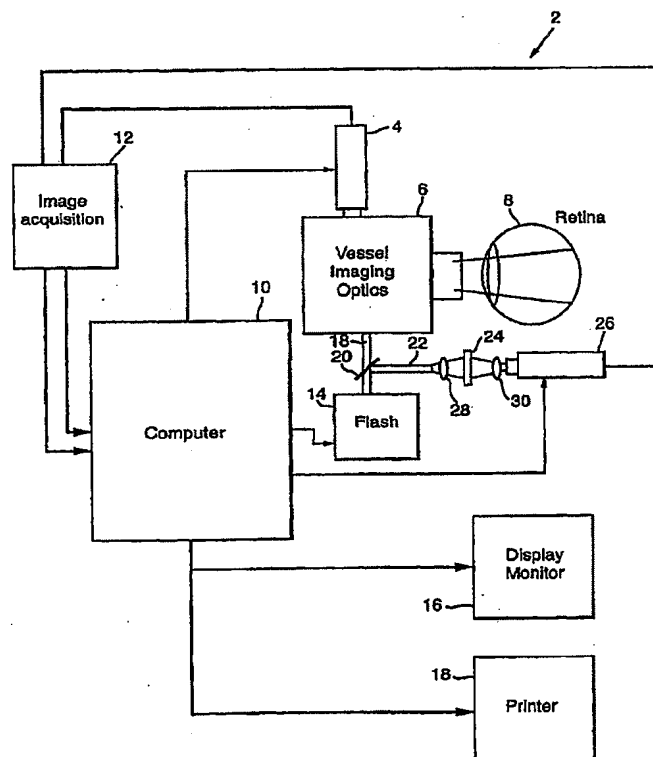
## INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification <sup>6</sup> : <b>A61B 3/12, 3/14</b>		<b>A1</b>	(11) International Publication Number: <b>WO 99/63882</b>
			(43) International Publication Date: 16 December 1999 (16.12.99)
(21) International Application Number: <b>PCT/IL99/00303</b> (22) International Filing Date: <b>7 June 1999 (07.06.99)</b> (30) Priority Data: 124814                      8 June 1998 (08.06.98) <b>IL</b> (71)(72) Applicant and Inventor: <b>GRINVALD, Amiram [IL/IL];</b> Weizmann Institute of Science, Meonot Wix 1, 76100 Rehovot (IL). (72) Inventor; and (75) Inventor/Applicant (for US only): <b>NELSON, Darin [IL/IL];</b> Meltzer Street 1/15, 76285 Rehovot (IL). (74) Agent: <b>WOLFF, BREGMAN AND GOLLER; P.O. Box 1352,</b> 91013 Jerusalem (IL).		(81) Designated States: <b>AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</b>  <b>Published</b> <i>With international search report.</i>	

(54) Title: IMAGING AND ANALYZING MOVEMENT OF INDIVIDUAL ERYTHROCYTES IN BLOOD VESSELS

## (57) Abstract

The invention provides a system for directly imaging and analyzing the movement of individual erythrocytes in blood vessels, the system comprising imaging means (4, 26) for acquiring, within a predetermined time interval from each other, at least one pair of images of at least one same erythrocyte for producing at least two frames, each image representing an analog or digital image of the location of the erythrocyte in each of the frames at a predetermined time; image acquisition means (12) for collecting and storing analog or digital images in machine-readable form, and a computer (10) for controlling the operation of the imaging means and the image acquisition means, for processing the at least two frames, and for analyzing the movement of the erythrocyte in the blood vessels. A method for directly imaging and analyzing the movement of individual erythrocytes in blood vessels is also provided.



**FOR THE PURPOSES OF INFORMATION ONLY**

Codes used to identify States party to the PCT on the front pages of pamphlets publishing international applications under the PCT.

AL	Albania	ES	Spain	LS	Lesotho	SI	Slovenia
AM	Armenia	FI	Finland	LT	Lithuania	SK	Slovakia
AT	Austria	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabon	LV	Latvia	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaijan	GB	United Kingdom	MC	Monaco	TD	Chad
BA	Bosnia and Herzegovina	GE	Georgia	MD	Republic of Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tajikistan
BE	Belgium	GN	Guinea	MK	The former Yugoslav Republic of Macedonia	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Greece			TR	Turkey
BG	Bulgaria	HU	Hungary	ML	Mali	TT	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	IE	Ireland	MN	Mongolia	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israel	MR	Mauritania	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Iceland	MW	Malawi	US	United States of America
CA	Canada	IT	Italy	MX	Mexico	UZ	Uzbekistan
CF	Central African Republic	JP	Japan	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Netherlands	YU	Yugoslavia
CH	Switzerland	KG	Kyrgyzstan	NO	Norway	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Democratic People's Republic of Korea	NZ	New Zealand		
CM	Cameroon			PL	Poland		
CN	China	KR	Republic of Korea	PT	Portugal		
CU	Cuba	KZ	Kazakstan	RO	Romania		
CZ	Czech Republic	LC	Saint Lucia	RU	Russian Federation		
DE	Germany	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Denmark	LK	Sri Lanka	SE	Sweden		
EE	Estonia	LR	Liberia	SG	Singapore		

## IMAGING AND ANALYZING MOVEMENT OF INDIVIDUAL ERYTHROCYTES IN BLOOD VESSELS

**Field of the Invention**

The present invention relates to a system and a method for imaging and analyzing movements of individual erythrocytes in blood vessels. The system and method according to the present invention are particularly useful in imaging and analyzing the movement of erythrocytes in a retina or the head of the optic nerve, facilitating measurement of blood flow.

**Background of the Invention**

Diseases involving the retinal vasculature are one of the leading causes of blindness worldwide. Many of these diseases are both progressive and treatable. Thus, their early detection is highly desirable. Diagnoses are often made on the basis of the many obvious structural changes which may occur in the retina as a consequence of problems with retinal blood flow. These include neovascularization (the growth of new blood vessels in an attempt to compensate for a reduction in flow through pre-existing vessels), cotton-wool patches (regions in which nerve fiber axoplasmic transport has failed), and eventually the degeneration of retinal nerve fibers. Once observed, these and other phenomena may be used to diagnose retinal vascular disease, and treatment may begin to ameliorate further degeneration. However, it is desirable to detect such problems early, if possible, before irreversible damage has occurred.

For the above reason, attention has focused on developing methods of diagnosing retinal vasculature problems by measuring the rate of retinal blood flow, a reduction in which occurs prior to later, more serious, problems. It is desirable for such a method to be rapid, quantitative, and as non-invasive as possible. Film photography fluorescein and indo-cyanine green (ICG) angiography, for example, are commonly used techniques for assessing retinal blood flow. However, fluorescence angiography is a relatively long procedure (e.g., an hour or more), and is not quantitative, which prohibits assembling a database to which a patient's test results may be readily compared. Fluorescein and ICG angiography require the injection of a large bolus of a fluorescent compound into the bloodstream, a procedure which may have uncomfortable, even dangerous, side effects; and can therefore be administered only when other signs of disease are clearly indicated.

Furthermore, only one eye can be carefully followed per injection. Refinement of this technique has improved the quantification of blood flow results, as described in U.S. Patents 5,394,199 and 5,437,274, but has retained the disadvantages of invasiveness and, in the case of U.S. Patent 5,394,199, still permits close observation of only one eye.

Another, older, method of measuring retinal blood flow is disclosed in U.S. Patent 4,142,796 and uses the laser Doppler shift effect to detect flow rates at single points. This technique relies on changes in the frequency of light reflected back to a detector from a coherent light source, due to the movement of the target (*i.e.*, blood cells). However, this method does not reveal the overall pattern of blood flow, and so provides only limited information. More recent refinements of this method, disclosed in U.S. Patents 5,640,963 and 5,620,000, provide means for moving the laser beam and thus scanning a region of interest, to produce a two-dimensional image. However, use of this technique to date has not found wide acceptance among ophthalmologists, partially because it makes use of an indirect measure of blood flow rates, with uncertain variability in the measurements.

Laser speckle flowgraphy, described in U.S. Patents 4,950,070 and 5,090,799, has also been suggested as a means for measuring retinal blood flow. This technique analyzes variations in the reflected light from a laser beam in a small region to determine the rate at which blood is flowing through that region. As for scanning laser Doppler imaging, this technique uses an indirect method to deduce the rate of flow from the signal which is obtained.

Both of the above-described techniques require the use of a laser, a device to scan the laser over the surface of the retina, and a significant number of additional detection optics beyond the basic fundus camera.

Another family of Doppler-effect-based systems is described in U.S. Patent 5,701,898 and relies on shifts in ultrasound frequencies, rather than light frequencies, to determine flow rates. The results, however, are again considered by some ophthalmologists to be difficult to interpret, and do not produce as well-resolved an image as some other techniques.

The common disadvantage of all of the above techniques is that none of them allows the visualization of individual erythrocytes at many sites. Because retinal flow is heterogeneous across different vessels, as well as over a period of time, important diagnostic information may be missed.

The field's interest in, and the importance of, developing a more direct method of measuring retinal blood flow is further illustrated by a technique published in Investigative Ophthalmology and Visual Science, Vol. 39, pp. 407-415 (February 1998). This technique is a successful means of directly imaging local blood flow and individual erythrocytes; nevertheless, it is highly invasive, requiring surgical incision of the eye and subsequent introduction of an intraocular endoscope. Its eventual clinical utility is therefore extremely restricted.

Thus, there is a need for a diagnostic device which can measure rates of blood flow in a vessel non-invasively, quantitatively and quickly, and which is straightforward enough in interpretation for find general acceptance among medical practitioners for regular use with patients.

#### **Summary of the Invention**

It is a broad object of the present invention to provide a system and a method for directly and non-invasively measuring blood flow rates in a vessel.

It is a further object of the invention to provide a method for directly, non-invasively measuring blood flow rates in a vessel by detecting the motion of individual erythrocytes in a bloodstream.

A still further object of the present invention is to provide a method for directly, non-invasively measuring blood flow rates by detecting changes in image reflectance of individual erythrocytes in a bloodstream and determining the rate of flow.

In accordance with the present invention, there is therefore provided a system for directly imaging and analyzing the movement of individual erythrocytes in a blood vessel, comprising imaging means for acquiring, within a predetermined time interval from each other, at least one pair of images of at least one same erythrocyte for producing at least two frames, each image representing an analog or digital image of the location of said erythrocyte in each of said frames at a predetermined time; frame

grabbing means for collecting and storing said analog or digital images in machine-readable form, and a computer for controlling the operation of said imaging means and said frame grabbing means, for processing said at least two frames, and for analyzing the movement of said erythrocyte in the blood vessel.

The invention further provides a method for directly imaging and analyzing the movement of individual erythrocytes in blood vessels, said method comprising acquiring, within a predetermined time interval from each other, at least one pair of images of at least one same erythrocyte for producing at least two frames, each image representing an analog or digital image of the location of said erythrocyte in each of said frames at a predetermined time; collecting and storing said analog or digital images in machine-readable form and applying said images to a computer to facilitate processing; performing image-difference analysis on said at least two frames to determine a motion signal resulting from the movement of said erythrocyte, and producing a quantitative measurement of the movement of the erythrocyte in said vessels.

The invention will now be described in connection with certain preferred embodiments with reference to the following illustrative figures so that it may be more fully understood.

With specific reference now to the figures in detail, it is stressed that the particulars shown are by way of example and for purposes of illustrative discussion of the preferred embodiments of the present invention only, and are presented in the cause of providing what is believed to be the most useful and readily understood description of the principles and conceptual aspects of the invention. In this regard, no attempt is made to show structural details of the invention in more detail than is necessary for a fundamental understanding of the invention, the description taken with the drawings making apparent to those skilled in the art how the several forms of the invention may be embodied in practice.

**Brief Description of the Drawings**

- Fig. 1 is a block diagram illustrating the system according to the present invention for non-invasively measuring blood flow rate in a vessel;
- Fig. 2 illustrates the image processing technique;
- Fig. 3 is a representation of an erythrocyte cluster movement in a blood vessel;
- Fig. 4 is a flow diagram illustrating the steps of image acquisition;
- Fig. 5 is a flow diagram illustrating the steps of imaging acquisition, preparatory stages and image processing, and
- Fig. 6 is a flow diagram of the method according to the present invention, illustrating both automatic and interactive analyses.

**Detailed Description of Preferred Embodiments**

In Fig. 1 there is illustrated a preferred embodiment of a system for non-invasively measuring the blood flow rate in a vessel. For illustrative purposes only, the specification relates mainly, as a practical example, to such measurements performed in the retina of an eye. The system 2 includes a good quality (providing at least 10 bits of usable resolution when digitized) imaging means 4, such as a CCD camera in combination with a vessel imaging optical arrangement 6, such as a fundus camera or an ophthalmoscope, viewing the vessels in which measurements are to be performed, in the illustrated case, vessels in retina 8. The imaged data is applied to a computer 10 through an image acquisition interface 12, for example, a digital frame grabber. The computer 10 controls the image acquisition and illumination timing by means of a flash 14 and also has storage capability. There is optionally provided a display monitor 16 for viewing the results of automatic image analysis and permitting interactive image analysis, and a printer 18 for hard copy output of analysis results.

As can be realized, it is important to illuminate the imaged vessel in a closely controlled manner. For each imaged region of vessels to be analyzed, several imaging trials are run. For each trial, two high-resolution, high bit-depth images of the retinal vasculature are obtained within a few msec of one another. The inter-image interval is within the range between 5 and 200 msec, typically between 5 and 100 msec. The

interval is varied to aid in extracting slow vs fast motion from both large-diameter and very small-diameter capillaries, venules and arterioles. It is necessary to use brief flashes of light of a few milliseconds or less in order to obtain crisp images. Furthermore, the flashes of light must be nearly identical in intensity, to allow extraction of the motion signal.

An important feature of the invention is the close control of the parameters of illumination of the eye during imaging. Several imaging trials are run for each subject. For each trial, two high-resolution, high bit-depth images of the retinal vasculature are obtained within 5-200 msec of one another (the interval is varied to aid in extracting slow vs fast motion from both large diameter and very small diameter capillaries, venules and arterioles, see below). In order to get crisp images, it is advantageous to use brief flashes of light (a few milliseconds or less); furthermore, the flashes of light must be nearly identical in intensity, to allow extraction of the motion signal. The illumination is advantageously comprised primarily of blue light (400 to 450 nm) and/or green light (530 to 580 nm) to improve the contrast between the erythrocytes, which most strongly absorb in this range, and the relatively reflective retina against which they are imaged. This allows reduction in the overall illumination of the retina.

The above considerations lead to the incorporation of a highly stabilized flash device 14 into the system, with the source of illumination either physically integrated within imaging optical arrangement 6, or attached via a fiber optic lead 18. This flash device is advantageously comprised of a high-powered xenon flash lamp, powered by an externally controlled power supply configured so as to meet the special illumination timing and intensity requirements of the present invention which are not met by the light sources used in previously existing ophthalmic imaging devices. The timing of the flash is controlled by the image acquisition software of computer 10.

The light incident on the retina is passed through a bandpass filter (e.g., 400-450 nm or 530-580 nm) to increase contrast, as described above. While flash illumination has long been used in fundus photography, special emphasis is placed upon brief (5-200 msec) inter-flash intervals, and upon inter-flash stability, both important features of the present invention.



Even when using carefully stabilized illumination sources, irregularities in the image may occur, due to spatial inhomogeneities in the illumination pattern which are not reproduced in each flash. Without additional image information, this type of illumination irregularity cannot be compensated for accurately. The present invention optionally includes means for obtaining this information.

By the use of another beam-splitting element in the illuminating pathway, e.g., partially reflective mirror 20, a fraction of the beam of light used to illuminate the retina is diverted along pathway 22 and brought to impinge on a calibrating target 24 placed at the same image plane as the retina 8. The calibrating target may be an even, white, translucent surface such as ground glass, imaged from behind by a second imaging means 26, such as a video camera with focusing optics 28, 30. The beam splitter element 20 need divert only a small fraction of the overall illumination, because a ground glass target is brighter than the more light-absorbent retina for the same amount of illumination. Furthermore, for a light source with good spectral stability, bandpass filtering need not be applied to the calibration beam (as it is to the retinal illumination beam), further reducing the fraction of total light which needs to be diverted.

Variations from flash to flash in the image seen by the calibration imaging means 24 are recorded and the information used to provide a correction factor for both overall and spatially localized irregularities in illumination intensity. Back reflections from the calibration target to the retinal imaging camera do not interfere with image acquisition, because they are largely attenuated due to the fractional reflectance of the beam splitter, and because they are subject to the same correction operation as the retina's reflected light.

It should be noted that the calibration imaging means 24 may be relatively inexpensive. It need not have the fine imaging resolution of the retinal imaging means 4, as spatial inhomogeneities in the illumination pattern lack sharp boundaries.

The optics of the vessel-imaging arrangement 6 may be embodied in different ways. As previously described, it can be constituted by a fundus camera for viewing the retina. An ophthalmoscope may provide an alternative means for viewing the retina.

The vessel-imaging optics can be embodied by standard camera macro lenses when imaging blood vessels on the surface of the brain, from which the overlying skull and dura have been removed. More generally, an endoscope provides an obvious means for gaining visual access to beds of blood vessels contained within a body. The motion of individual erythrocytes in the bloodstream thus can be detected as small, trackable changes in image reflectance, changes which can be directly analyzed to produce both quantitative and qualitative information as to the rate of flow.

The method of image acquisition and analysis according to the present invention will now be described with reference to Figs. 2 to 6. In order to assist understanding, reference is first made to Fig. 2, which illustrates a hypothetical image pair (panels *A* and *B*) containing a single moving blood cell to be analyzed. In this example, two small circles (representing a moving erythrocyte) can be made out slightly below and to the left of the center of the top two images. In an actual image pair, the single-frame images of the blood cells are completely invisible to the human eye; they are exaggerated here for illustrative purposes.

By subtracting *B* from *A*, or dividing *A* by *B*, then rescaling the result (multiplying it by a factor of, for example, 100), the differences between the two images are specifically revealed and emphasized. The differences include noise, represented by speckles, but also changes in reflectance due to the movement of the blood cell. The movement of the cell is shown as the dark patch/light patch pair in panel *C*. Where the patch pair is dark, the dark-colored blood cell has moved out of its initial (panel *A*) position; where the image is lighter, it has moved into a new (panel *B*) position. The region of overlap between the two positions remains encoded as a signal-free gray, as no difference in reflectance is measured at that point.

Obviously, an automated method of motion analysis is desirable, to convert inter-image differences into numbers reflecting the rate of flow. An outline of the strategy used to carry out this analysis follows, with reference to Fig. 3, which illustrates a cluster of erythrocytes in a blood vessel. Seen in panel *D* is a cluster of erythrocytes moving through a blood vessel *BS* in the instantaneous direction indicated by the arrow. Obviously, a single blood cell may also be shown; a cluster is depicted

only in order to illustrate the generality of the method. Panel *E* shows the position of these cells a few milliseconds later. For a sufficiently short time interval, the relative placement and rotation of these cells will be similar enough between images to allow their direct comparison. Actual erythrocytes, which are flexible, may also undergo transformations in their shape during their passage through blood vessels.

The frame (boxed region) in panel *D* represents an arbitrary sub-region in the first image, one of many which will be tested automatically. The frame in panel *E* is in a different location, but the fraction of the overall image it contains is that which most closely matches the frame in panel *D*. Visually, the similarity is easy to detect; the automated scheme of testing several candidate regions to pick the best match, as described below, is used to perform the same type of matching task.

The displacement of the two frames relative to one another (compare the two sets of cursor lines in panel *E*), gives the initial estimate of the local direction of motion of blood cells at the region centered on the frame in panel *D*. Because this method relies only on comparisons between small sub-regions, it does not rely on the overall shape of the groups of blood cells moving through the image, but only on the moment-to-moment similarity in their relative positions as they flow through the vessel.

Referring now to Fig. 4, it is seen that during the image acquisition phase of the diagnostic process, many pairs of images can be obtained and stored (steps 32 to 38) with different inter-image intervals, as determined by the operator at 40. Different rates of flow, such as capillary vs. arteriole, or normal patient vs. anoxic patient, are best detected using different inter-image intervals. Thus, a range of intervals is selected, based on the type of blood vessel to be imaged as well as the operator's expectations, based on previous findings in the patient. A predetermined default range of intervals may, of course, also be used.

Two preferred types of analysis methods are available. One method is entirely automatic once initial parameters have been set by the operator, and converts a set of pairs of acquired images into a single, pseudo-colored image of blood flow rate. The other method provides two displays, which allow the operator to directly view the

motion signal using the display monitor 16, supplementing the automated analysis. While the primary object of the present invention is to provide a quantitative report of blood flow rates, providing operators with the ability to qualitatively confirm these results by direct inspection of the acquired images will increase the medical doctor's confidence in the validity of said automatically generated results. In addition, the interpretive power of the human brain and visual system greatly exceeds that of machine vision; thus, permitting direct inspection of the raw motion signal may also produce diagnostic insights which would otherwise be missed, such as, for example, the detection of slowly leaking blood vessels, clumped or misshapen corpuscles, locally and intermittently uneven flow, etc.

Analysis of the images begins substantially identically for both interactive and automatic analyses. In the case of imaging a vessel in a non-stationary organ such as the retina, there are two preparatory steps, shown in Fig. 5: first, global alignment of images at 42 based on the pattern of the vasculature, to correct for any eye movement; and second, image brightness, histogram-based normalization of the images at 44, to correct for small illumination variations which may have occurred. A background blank is constructed at 46 by averaging together many of these images. This background blank is then subtracted from each individual image at 42. The resulting difference image emphasizes the unique features in the low-order bits of the pixels of each image, which are primarily due to the on-going movement of the erythrocytes in the bloodstream. This step performing difference operation is the key to extracting the motion signal available in each image pair for further analyzing the motion at 48 and, if desired, saving the analysis at 50. Fig. 2 illustrates the importance of this step in analyzing the reflectance signal in diagrammatic form. The top two panels *A* and *B* show the position of a single erythrocyte, as it might change between two image frames against a stable but complex background. While the round outline of the erythrocyte is not clearly visible in the two raw images, the difference image at bottom panel *C* does clearly reveal a black-and-white pair of spots, representing the position of the erythrocyte at two points in time.

Clearly, such a difference imaging step might be implemented via alternative algorithms differing in their particulars. One alternative method, which generates substantially the same type of image enhancement, is to divide the two images by one another, which again has the effect of cancelling static information and emphasizing inter-image differences.

Automated motion analysis, based on these difference images, proceeds as shown in Fig. 6. Determination of the direction and rate of flow is begun by comparing small sub-regions of the first image, centered on each pixel in turn, typically 3x3 pixels in size, but changeable by the operator if desired, to many identically-sized, nearby sub-regions of the second image according to steps 52 to 68. By "nearby" is meant within a distance fixed by the operator, typically 10 to 20 pixels. Regions with centers not along the local axis of the vessel, or with motion signals too small for reliable analysis, as determined, e.g., from a thresholded image, may optionally be excluded in order to speed processing.

For each pair of sub-regions tested, a number representing their similarity is obtained at 62, first by squaring the difference between them and then by averaging this value over all the pixels in the difference between the sub-regions. This gives the mean squared error (MSE) between the two sub-regions. Small values represent greater similarity. For the sub-region centered on each pixel in the first image, the relative displacement in two dimensions from the center of each of the  $M$  most similar regions from the second image ( $M$  may be varied, depending on operator settings) is recorded in rank order at 70.

The results of the foregoing are expected to include a number of errors, including false matches. The next phase of the algorithm 72 to 80 is designed to find the consensus direction and distance of flow (the movement vector) in the local region of the image centered on each pixel. This is done in one preferred instantiation by determining the weighted median local displacement of the second image, producing maximum similarity at 76. "Local region," mentioned above, is a user-determined parameter, typically 3x3 or 5x5 pixels. The median determination is weighted by a factor derived from the inverse rank order of the similarity measured for each

displacement recorded for each pixel. One obvious extension of this technique would use the average of the movement vectors which fall near the median to estimate the movement vector with sub-pixel precision. Other specific algorithms, trivially varying from the above, may yield substantially the same information; the claim here is the transformation of single-pixel flow estimates into estimates based on the similarity of flow direction among nearby pixels.

Following the above analysis, for each pixel location analyzed, a motion vector is generated at 80, showing how far and in which direction the erythrocytes moved during the inter-image interval.

While the above description refers to the analysis of only a single pair of images, such an analysis is carried out for each of the several image pairs obtained. A map of blood flow direction is compiled from the consensus results obtained by analyzing many such image pairs. By dividing the magnitude of these vectors by the inter-image interval, a rate-of-flow map is created at 82, which may be displayed as a color image. Obviously, this image may itself be subjected to standard image-processing algorithms which perform spatial filtering to reduce noise. Display of this information may also be integrated with information about local blood vessel diameter, computed from a threshold image of the vessel. For example, a graph may be generated, showing optically measured blood flow rate vs. blood vessel diameter, yielding a metric which permits inter-patient comparisons.

Interactive analysis of the images begins from the aligned, normalized images. The operator may view these images in one of two ways: in the first, the averaged image, made from trials acquired, similar to the procedure for the automated analysis, is subtracted from each of a pair of images chosen at 84 by the operator. Again, obviously, more than one pair may be used. These two images are then rapidly and alternately displayed in an on-screen window, the rate being under manual control (animated view 86). The illusion of motion which this provides, allows the operator to visually detect regions of relatively greater and lesser flow rate. The automatically generated quantitative flow rate image may be displayed simultaneously, to verify the qualitative impressions of the operator.

A second qualitative analysis method simply subtracts the second image in a pair from the first at 88. This direct difference image brings out the same motion signal as does average background image subtractions, but compresses it into one image without additional intervening analysis. It produces a static image, mostly gray where there is no change in pixel intensity between images, with dark, negative valued pixels and light, positive valued pixels representing regions from which (dark) and into which (light) erythrocytes have moved during the inter-image interval. This method obviously performs best when the distance moved by the erythrocytes is not too large (on the order of a cell body's width, or less), and when the spacing between individual erythrocytes is relatively clear, as is particularly the case for capillaries. The control of the interval between frames allows the production/selection of the optimal images.

While the analysis algorithm flow chart of Fig. 6 depicts the above-described analysis methods as logically separate branches, it is worthwhile to make switching between the automated and interactive modes of analysis as seamless as possible for the operator, to aid in the understanding of the results. This consideration is implemented in the preferred embodiment of the present invention, wherein the acquisition and analysis software has been designed to permit rapid and flexible movement among pairs of images and among the various views of these images displayed on the computer monitor.

It will be evident to those skilled in the art that the invention is not limited to the details of the foregoing illustrated embodiments and that the present invention may be embodied in other specific forms without departing from the spirit or essential attributes thereof. The present embodiments are therefore to be considered in all respects as illustrative and not restrictive, the scope of the invention being indicated by the appended claims rather than by the foregoing description, and all changes which come within the meaning and range of equivalency of the claims are therefore intended to be embraced therein.

## CLAIMS

1. A system for directly imaging and analyzing the movement of individual erythrocytes in blood vessels, said system comprising:

imaging means for acquiring, within a predetermined time interval from each other, at least one pair of images of at least one same erythrocyte for producing at least two frames, each image representing an analog or digital image of the location of said erythrocyte in each of said frames at a predetermined time;

image acquisition means for collecting and storing analog or digital images in machine-readable form, and

a computer for controlling the operation of said imaging means and said image acquisition means, for processing said at least two frames, and for analyzing the movement of said erythrocyte in said blood vessels.

2. The system as claimed in claim 1, wherein said imaging means comprises retinal imaging optics.
3. The system as claimed in claim 1, wherein said imaging means comprises a CCD camera.
4. The system as claimed in claim 1, further comprising a computer-controlled flash for illuminating said erythrocytes upon their being imaged.
5. The system as claimed in any one of the preceding claims, wherein said computer-controlled flash comprises means for delivering two nearly identical flashes of light sufficiently intense for the motion of retinal erythrocytes to be imaged and detected by said retinal imaging optics, operating in conjunction with said CCD camera, said means being further capable of delivering both of said flashes of light within a time interval of between 5 and 100 milliseconds.
6. The system as claimed in claim 1, further comprising an optical arrangement for detecting variations in the illumination of the erythrocytes during consecutive imaging.
7. The system as claimed in claim 1, further comprising a monitor connected to said computer, for displaying acquired images and processed images and for interactive analysis of the movement of said erythrocytes in blood vessels.



8. The system as claimed in claim 1, further comprising a printer for printing the acquired and processed images.

9. A method for directly imaging and analyzing the movement of individual erythrocytes in blood vessels, said method comprising:

acquiring, within a predetermined time interval from each other, at least one pair of images of at least one same erythrocyte for producing at least two frames, each image representing an analog or digital image of the location of said erythrocyte in each of said frames at a predetermined time;

collecting and storing said analog or digital images in machine-readable form and applying said images to a computer to facilitate processing;

performing image-difference analysis on said at least two frames to determine a motion signal resulting from the movement of said erythrocyte, and

producing a quantitative measurement of the movement of the erythrocyte in said vessels.

10. The method as claimed in claim 9, wherein said time interval is between 5 and 100 milliseconds.

11. The method as claimed in claim 9, wherein said image difference analysis is performed by constructing a background blank by averaging together a plurality of frames and subtracting said background blank from each of said at least two frames.

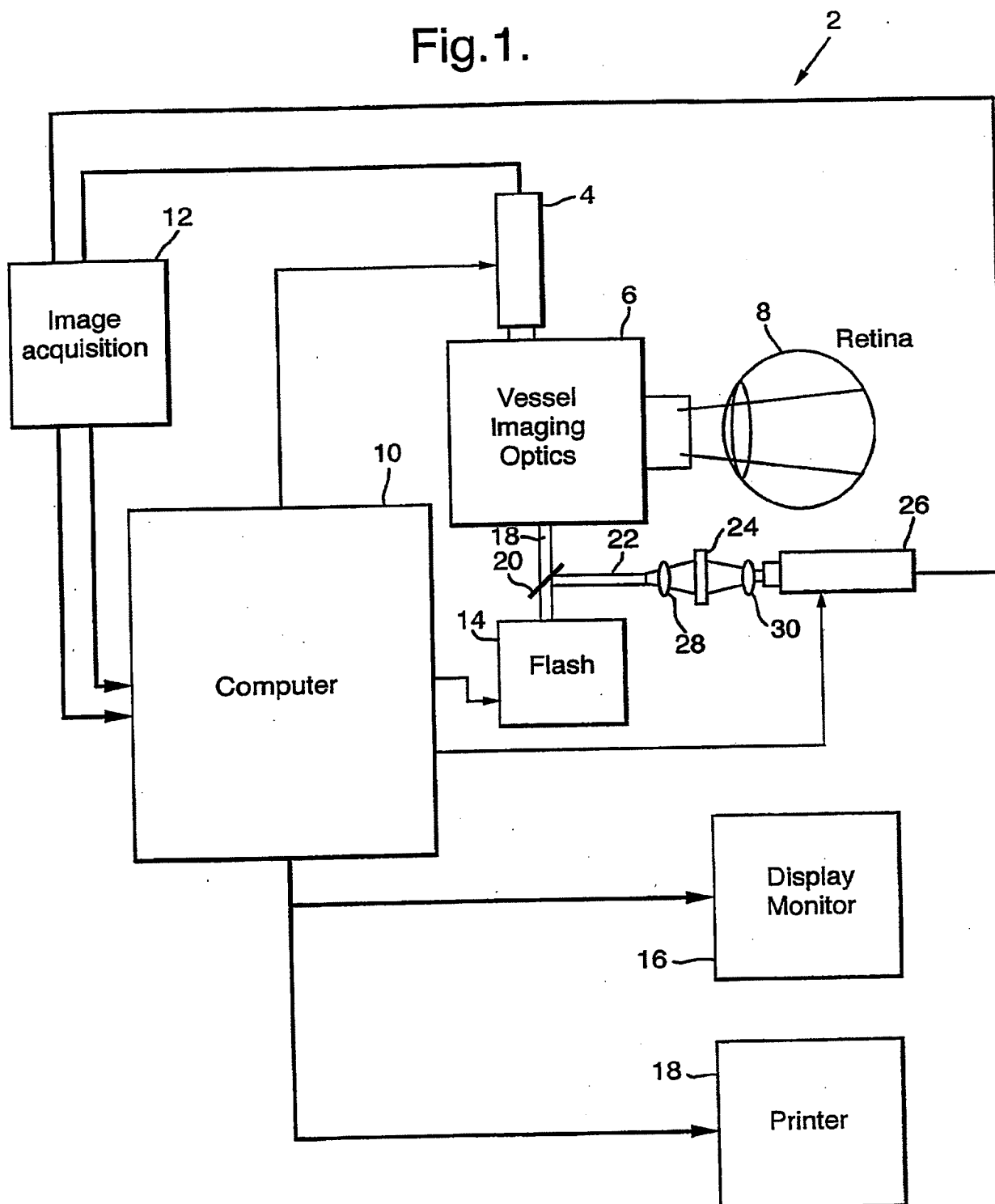
12. The method as claimed in claim 9, further comprising the preparatory step of global alignment of each of said images to correct for movement of the vessels carrying said erythrocytes.

13. The method as claimed in claim 9, further comprising the preparatory step of normalization of the image brightness of said frames to correct small illumination variations between said frames.

14. The method as claimed in claim 9, further comprising illuminating said blood vessels upon acquiring said frames.

15. The method as claimed in claim 9, further comprising the step of displaying said images and an image produced by the motion signal resulting from said image difference analysis, to allow interactive analysis thereof.

Fig. 1.



2/6

Fig.2.

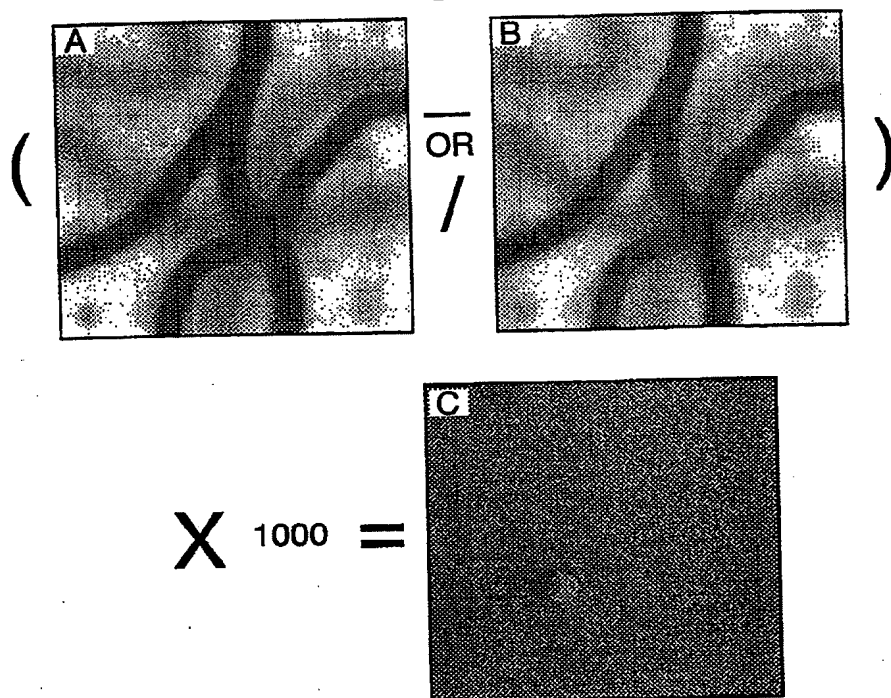


Fig.3.

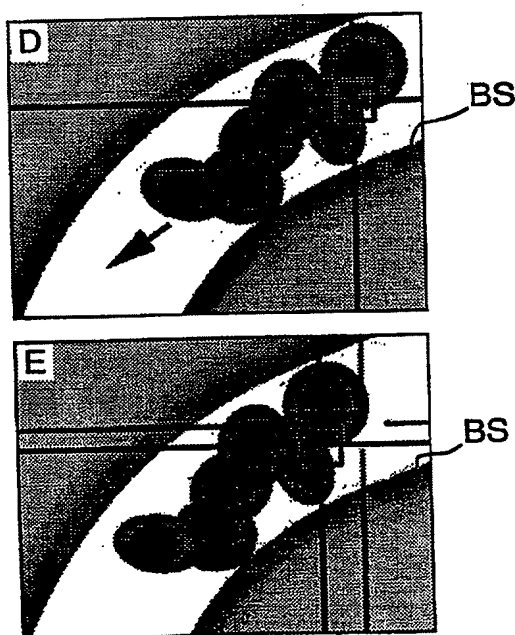
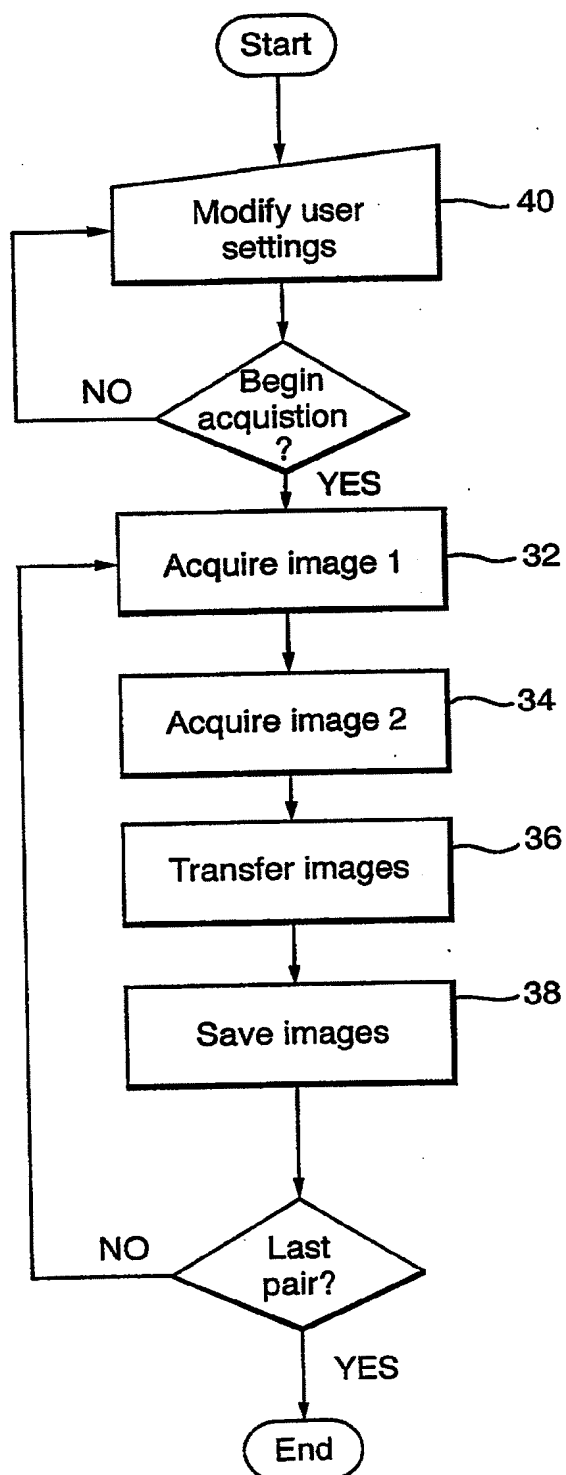


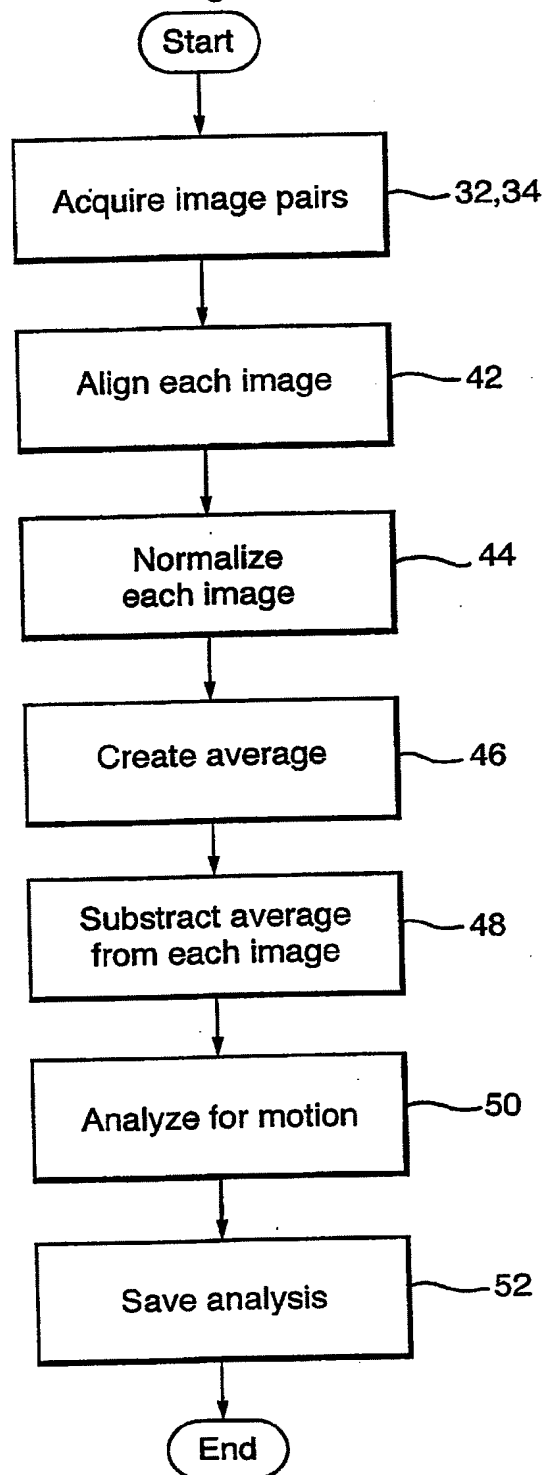
Fig.4.

Acquire image pairs



4/6

Fig.5.

Main  
Acquisition/Analysis  
of images

Analyze for motion  
(simplified)

Fig.6.

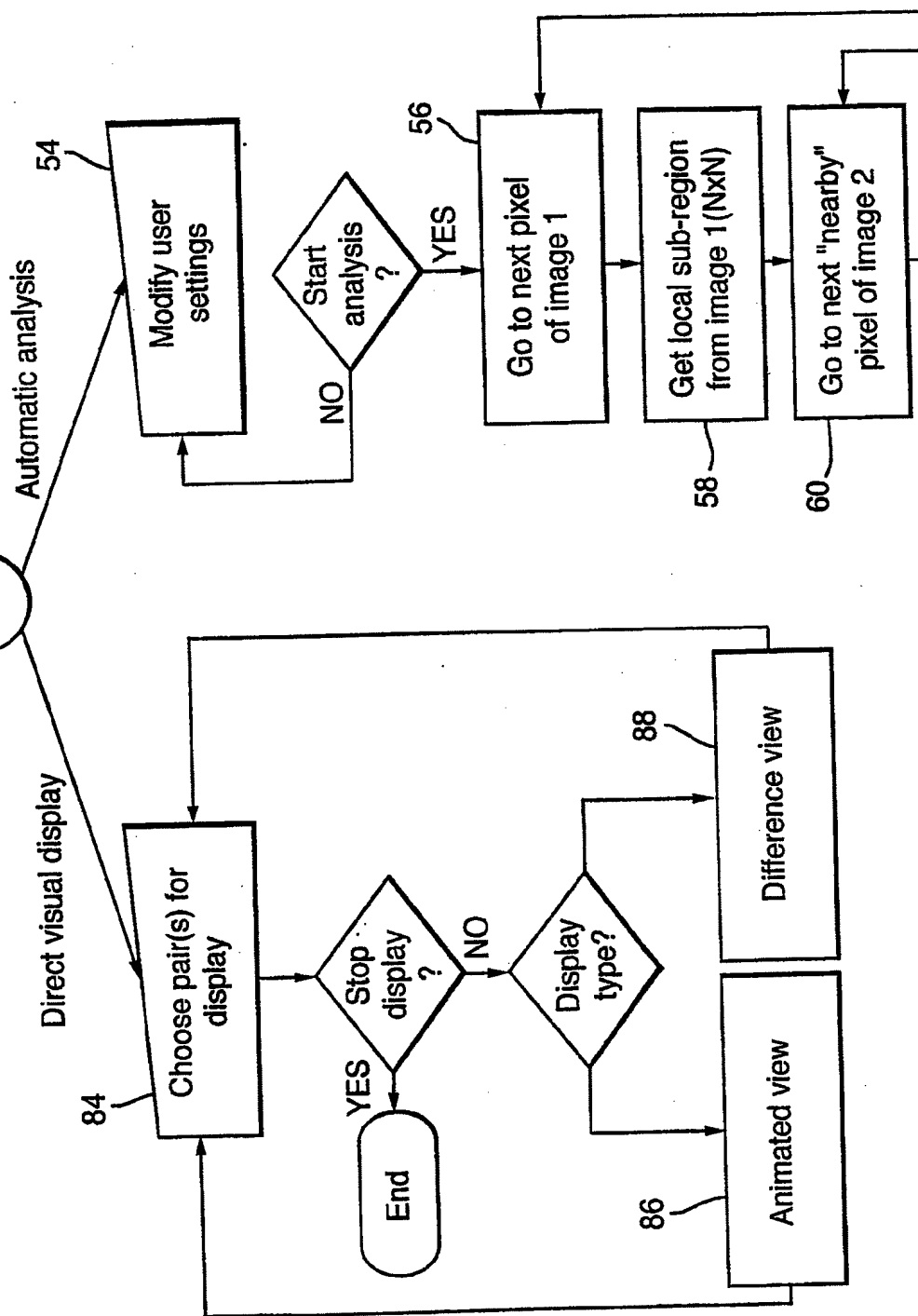
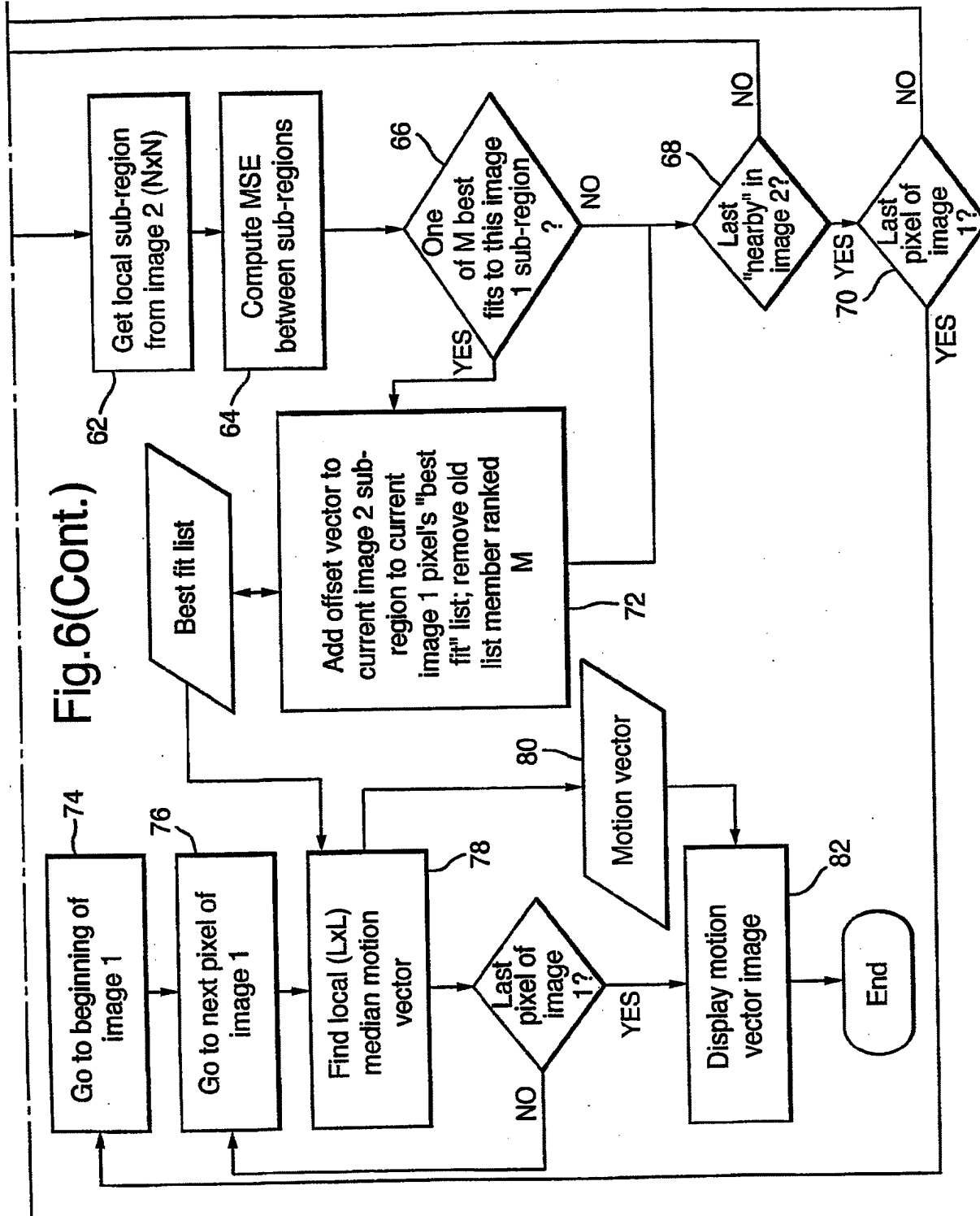


Fig. 6(Cont.)



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/IL 99/00303

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 A61B3/12 A61B3/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 6 A61B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 96 17545 A (JOSLIN DIABETES CENTER INC ;BURSELL SVEN ERIK (US); AIELLO LLOYD M) 13 June 1996 (1996-06-13)	1-3
A	page 19, line 1 - line 14 page 5, line 4 - page 10, line 17 page 16, line 10 - page 18, line 14; table 1	4,5,9
A	DE 196 50 117 A (MIRA GMBH) 4 June 1998 (1998-06-04) column 4, line 59 - column 6, line 6; tables 1,2	1-3
A	US 5 394 199 A (FLOWER ROBERT W) 28 February 1995 (1995-02-28) cited in the application abstract	1,9,11

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 August 1999

Date of mailing of the international search report

02/09/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Weihs, J



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/IL 99/00303

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	P.S.JENSEN ET AL: "regional variation in capillary hemodynamics in the cat retina" INVESTIGATIVE OPHTHALMOLOGY AND VISUAL SCIENCE, vol. 39, no. 2, February 1998 (1998-02), pages 407-415, XP002112768	1-3
A	cited in the application page 408, left-hand column, line 7 - page 410, right-hand column, line 15; tables 1-5 -----	9

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/IL 99/00303

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9617545 A	13-06-1996	AU 706720 B AU 4512796 A CA 2207318 A JP 10510187 T	24-06-1999 26-06-1996 13-06-1996 06-10-1998
DE 19650117 A	04-06-1998	NONE	
US 5394199 A	28-02-1995	WO 9609792 A AU 8072294 A EP 0801534 A JP 10506550 T	04-04-1996 19-04-1996 22-10-1997 30-06-1998

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **07163534 A**(43) Date of publication of application: **27.06.95**

(51) Int. Cl.

**A61B 5/0285****A61B 3/10****A61B 3/12**(21) Application number: **05343091**(71) Applicant: **CANON INC**(22) Date of filing: **14.12.93**(72) Inventor: **TSUKADA MAMORU**

(54) **FUNDUS OCULI BLOOD FLOW VELOCITY  
MEASURING METHOD AND MEASURING  
INSTRUMENT THEREFOR**

COPYRIGHT: (C)1995,JPO

(57) Abstract:

**PURPOSE:** To measure the blood flow velocity of the fundus oculi in real time even if the flow velocity changes according to the pulsation of the heart at the time of measuring the blood flow velocity.

**CONSTITUTION:** The luminous flux from a light source 38 for measurement which emits an He-Ne laser beam is projected to the blood vessel Ev on the fundus oculi Ea and the reflected light from the blood vessel is reflected by a pair of small mirrors 31a, 31b behind a holed mirror 30 and is received by a photomultiplier 40a. The Doppler signals from the photomultiplier 40a are inputted to a phase locked loop circuit of which the self-traveling frequency is approximated from a high-frequency side where the Doppler signals do not exist to multiply the max. blood flow velocity of the blood vessel Ev forming laminar flow by phase synchronization. Further, a suitable input sensitivity and synchronizing range are set in the phase locked loop circuit and the blood flow velocity is measured in real time.

